

**IMMEDIATE TEST OF ETHANOL EXTRACT OF PEPAYA SEEDS ON *Escherichia coli* AND *Shigella dysenteriae* BACTERIA WITH THE WELL DIFFUSION METHOD****UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Shigella dysenteriae* DENGAN METODE DIFUSI SUMURAN****Agustina Retnaningsih<sup>1</sup>, Annisa Primadhamanti<sup>1</sup>, Intan Marisa<sup>1</sup>**

E-mail: aragustinare@gmail.com

**ABSTRACT**

*Diarrhea is still a public health problem in developing countries like Indonesia. Bacteria that can cause diarrhea are Escherichia coli and Shigella dysenteriae. One of the traditional medicines for the treatment of diarrhea is with papaya seeds which have antibacterial properties. To find out the antibacterial activity, the inhibitory test of ethanol extract of papaya seeds was conducted using well diffusion method. The media for making holes or wells then drops the test solution at concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. Then incubated at 37 ° C for 24 hours. Inhibition of the growth of microorganisms is seen in the inhibitory zone (clear area) around the wells. This study used cotrimoxazole as a positive control and sterile aquadest as a negative control. The biggest inhibition zone in Shigella dysenteriae bacteria is at a concentration of 100% with an average of 16.03 mm and the smallest obstacle zone is at a concentration of 60% with an average of 9.22 mm. in Escherichia coli bacteria there are no obstacles. The results of this study can be concluded that the ethanol extract of papaya seeds has an antibacterial effect on the Shigella dysenteriae bacteria.*

**Keywords** : *papaya seed extract, diarrhea, Escherichia coli, Shigella dysenteriae, well diffusion*

**ABSTRAK**

Penyakit diare masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di negara berkembang seperti Indonesia. Bakteri yang dapat menyebabkan diare adalah *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Salah satu obat tradisional untuk pengobatan diare adalah dengan biji pepaya yang mempunyai kandungan karpain yang bersifat antibakteri. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri maka dilakukan uji daya hambat ekstrak etanol biji pepaya dengan menggunakan metode difusi sumuran. Media agar dibuat lubang atau sumuran kemudian diteteskan larutan uji pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme terlihat adanya zona hambat (wilayah jernih) disekitar sumuran. Penelitian ini digunakan kotrimoksazol sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatif. Zona hambatan terbesar pada bakteri *Shigella dysenteriae* adalah pada konsentrasi 100% dengan rata-rata 16,03 mm dan zona hambatan terkecil adalah pada konsentrasi 60% dengan rata-rata 9,22 mm. pada bakteri *Escherichia coli* tidak terdapat hambatan. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji pepaya memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

**Kata kunci** : Ekstrak biji pepaya, diare, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, difusi sumuran.

**PENDAHULUAN**

Di Indonesia penggunaan bahan-bahan alam sebagai obat telah banyak digunakan. Khasiat dari bahan-bahan alam tersebut diketahui berdasarkan pengalaman yang kemudian diwariskan secara turun-menurun. Salah satu

diantaranya adalah tanaman pepaya. Tanaman pepaya (*Carica papaya L*) merupakan salah satu buah yang banyak tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Pepaya banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia terutama bagian buah dan daunnya.

Pepaya memiliki manfaat yang besar antara lain untuk memperlancar pencernaan, sebagai sumber antioksidan, bahkan mampu berfungsi sebagai antijamur, dan antibakteri. Manfaat tanaman pepaya ini dapat ditemukan pada semua bagian tubuhnya, termasuk bijinya<sup>(4)</sup>.

Rasa biji pepaya yang pahit, pedas dan beraroma menyengat menjadikan biji pepaya kurang diminati sebagai bahan konsumsi. Biji pepaya masih dianggap limbah oleh masyarakat dunia dan belum dimanfaatkan secara optimal. Biji pepaya memiliki efek farmakologis bagi tubuh manusia karena adanya kandungan senyawa kompleks di dalamnya. Senyawa tersebut antara lain *tanin, fenol, saponin, dan alkaloid* yang bermanfaat sebagai anti diare<sup>(4)</sup>.

Diare adalah keadaan buang-buang air dengan banyak cairan (mencret) dan merupakan gejala dari penyakit-penyakit tertentu atau gangguan lain, seperti diuraikan di bawah ini Yun diare = mengalir melalui. Kasus ini banyak terdapat di negara-negara berkembang dengan standar hidupnya rendah dimana dehidrasi akibat diare merupakan salah satu penyebab kematian penting pada anak-anak<sup>(8)</sup>.

Diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, virus, parasit, alergi makanan, dan keracunan makanan. Keracunan makanan dapat terjadi karena mengkonsumsi makanan yang mengandung toksin yang dihasilkan oleh bakteri, diantaranya yaitu bakteri *Escherichia coli*<sup>(8)</sup>.

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji daya hambat biji pepaya yang berusia 2,3 dan 5 bulan pada bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran, dengan pelarut etanol 70%. Hasil yang didapatkan adalah bahwa biji pepaya dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes* dengan kemampuan menghambat paling besar pada bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat yang diperoleh sebesar 117,5145 mm, sedangkan untuk bakteri *Streptococcus pyogenes* diperoleh zona hambat sebesar 49,5335 mm<sup>(2)</sup>.

Pada penelitian Mulyono (2013), tentang uji daya hambat biji pepaya tua dan muda terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar. Ekstrak biji pepaya di larutkan menggunakan etanol 80% dengan metode maserasi. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini adalah ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi terkecil yaitu 480.000 ppm (48%) mampu menghasilkan zona sebesar 0,953 cm (9,53 mm) pada *Escherichia coli* dan 1,349 cm (13,49 mm) pada *Staphylococcus aureus*<sup>(3)</sup>.

Metode untuk uji antibakteri dibagi menjadi dua, yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi dibagi menjadi metode disk, sumuran dan parit. Untuk metode dilusi dibagi menjadi *broth dilution* dan *solid dilution*. Hal yang membedakan antara dua macam metode tersebut adalah berdasarkan media yang digunakan. Biasanya untuk metode difusi menggunakan medium padat sedangkan untuk metode dilusi menggunakan medium cair.<sup>(6)</sup>

Pada penelitian ini, penulis ingin mengetahui apakah ekstrak biji pepaya dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* yang dapat menyebabkan diare. Untuk membuktikan adanya efek antibakteri dari ekstrak biji pepaya terhadap bakteri tersebut, maka perlu dilakukan uji antibakteri. Metode yang digunakan penulis yaitu metode difusi sumuran, metode difusi sumuran yaitu dengan membuat lubang pada media agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang dimasukkan ekstrak yang diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang<sup>(1)</sup>

## METODOLOGI PENELITIAN

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Juli 2018. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Veteriner Bandar Lampung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak biji pepaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dan menginformasikan kepada para pembaca bahwa ekstrak etanol dari biji

pepaya memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu timbangan elektik, spatula, kain kasa, pinset, gunting, *yellow tip*, oven, *autoclave*, ose, incubator, cawan petri, corong, kapas steril, penggaris atau zona reader, erlenmeyer 250 ml, pipet ukur 10 ml, tabung reaksi, Bunsen, mikropipet.

Bahan yang digunakan yaitu media *Muller Hinton Agar* (MHA), biji pepaya, biakan *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*, aquadest steril, NaCl 0,9%, *Mac farland*, antibiotik Kotrimoksazol, *Nutrient Agar* (NA), etanol 96%.

### Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah buah pepaya yang diambil dari petani buah pepaya di desa Suban, Lampung Selatan. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu *purposive sampling*, merupakan teknik pengambilan sampel berdasarkan suatu pertimbangan tertentu seperti sifat-sifat populasi, ciri-ciri populasi dan jenis populasi. Pengambilan sampel berdasarkan kriteria :Jenis pepaya yang digunakan yaitu pepaya California karena pepaya jenis ini lebih banyak keberadaannya dan memiliki biji yang banyak. Biji yang digunakan pada penelitian ini adalah biji yang berwarna hitam dari buah sudah masak dengan kulit dan daging buah yang sudah berwarna orange dan dalam keadaan baik.

### Prosedur Penelitian

#### Preparasi Sampel

Biji pepaya dicuci bersih lalu dikeringkan dengan matahari langsung dan diangin-anginkan. Bahan yang telah kering kemudian dihaluskan dengan cara diblender.

#### Pembuatan Larutan Uji Ekstraksi Biji Pepaya

Biji pepaya yang sudah dikeringkan dan diblender ditimbang sebanyak 300 gram, masukan dalam botol maserasi yang tertutup rapat lalu

di larutkan dengan etanol 96% sebanyak 1500 ml. Biarkan selama 1 hari (1x24 jam) pada temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Setelah 1 hari disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat, ampas dimeserasi kembali dengan etanol 96% dan dilakukan hingga 3 kali pengulangan. Semua foltrat dikumpulkan lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan di *waterbath* sampai didapatkan ekstrak kental dengan bobot konstan.

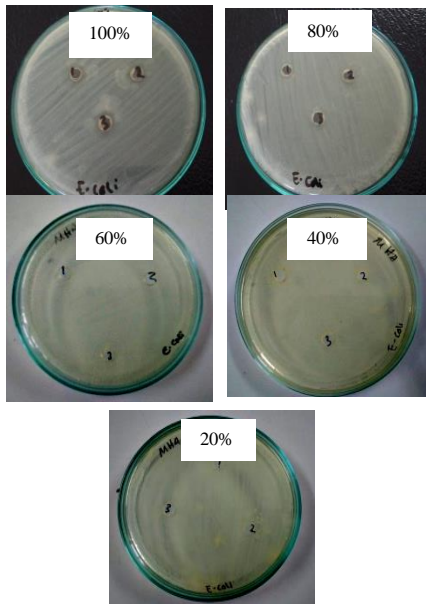
#### Cara Kerja

Buat Suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* sampai kekeruhan tertentu sesuai dengan standar 1 *Mc Farland*. Celupkan kapas lidi steril kedalam suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* tekan-tekan pada dinding sampai kapas tidak terlalu basah pada permukaan MHA. Buat sumuran diameter 6 mm di permukaan cawan petri. Ekstrak yang telah disiapkan diambil dan diteteskan 0,02 ml pada lubang sumuran yang dibuat dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, 20%. Kontrol positif Kotrimoksazol dan kontrol negatif aquades steril dimasukan ke dalam lubang sumuran yang telah dibuat. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Diamati zona bening yang terdapat disekitar sumuran.

#### Analisis Data

Setelah dilakukan penelitian secara laboratorium terhadap materi yang diujikan dengan uji daya hambat ekstrak biji pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* menggunakan metode sumuran difusi, maka dilakukan :Pengamatan ada atau tidaknya zona hambat (wilayah jernih) yang terbentuk disekitar sumuran. Pengukuran diameter zona hambatan (wilayah jernih) untuk hasil yang positif terdapat zona hambatan (wilayah jernih) disekitar sumuran. Perhitungan rata-rata zona hambat (wilayah jernih) untuk setiap perlakuan sampel yang diteliti.

**HASIL PENELITIAN**



Gambar 5.

Hasil pengujian ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* konsentrasi 100 %, 80 %, 60 %, 40% dan 20 %.

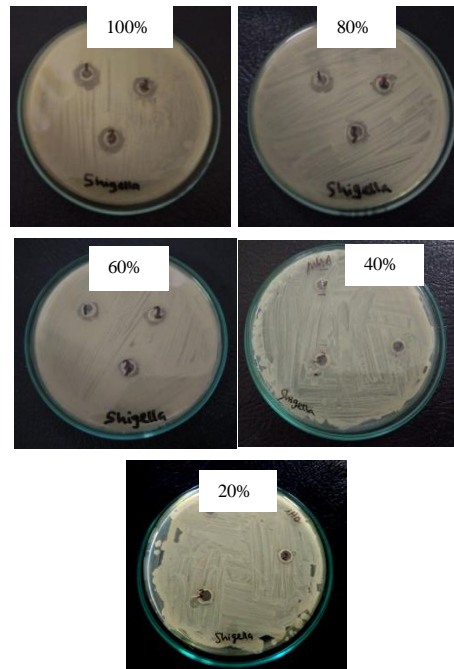
Hasil pengujian pada gambar 5, ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* bahwa pada konsentrasi 20% sampai 100% tidak terbentuk zona bening atau menunjukkan tidak adanya hambatan bakteri pada semua pengulangan.

Tabel 1.

Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Bakteri *Escherichia coli*.

Perlakuan dalam Konsentrasi	Pengulangan			Diameter rata-rata (mm)
	I	II	III	
20%	0	0	0	0
40%	0	0	0	0
60%	0	0	0	0
80%	0	0	0	0
100%	0	0	0	0

Hasil pengujian pada tabel 1, ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* bahwa pada konsentrasi 20% sampai 100% menunjukkan tidak adanya hambatan bakteri pada semua pengulangan.



Gambar 6.

Hasil Pengujian Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40% dan 20%.

Hasil pengujian pada gambar 6, ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* bahwa pada konsentrasi 60%, 80% dan 100% terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan bakteri pada semua pengulangan sedangkan konsentrasi 20% dan 40% tidak terbentuk zona bening atau tidak menunjukkan adanya hambatan bakteri pada semua pengulangan.

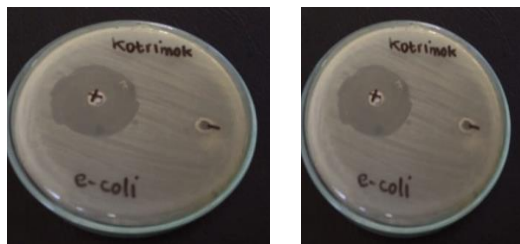
Tabel 2.

asil Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*

Jenis Kontrol		Diameter Zona Hambat
Kontrol Positif	<i>Kotrimoksazol</i>	41,16 mm
Kontrol Negatif	Aquades steril	-

Hasil pengujian pada tabel 2, ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* bahwa pada konsentrasi 60%, 80% dan 100% terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan bakteri pada semua pengulangan sedangkan konsentrasi 20% dan 40% tidak terbentuk zona

bening atau tidak menunjukkan adanya hambatan bakteri pada semua pengulangan.



Gambar 7.  
Hasil Pengujian Kontrol Positif dan Kontrol Negatif terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Dari hasil pengujian pada gambar 7, kontrol positif menggunakan antibiotik kotrimoksazol terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan pada bakteri *Escherichia coli* dan kontrol negatif menggunakan aquades steril tidak terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan pada bakteri *Escherichia coli*.

Tabel 3.  
Hasil Diameter Zona Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan dalam Konsentrasi	Pengulangan			Diameter rata-rata (mm)
	I	II	III	
20%	0	0	0	0
40%	0	0	0	0
60%	9,23	9,25	9,19	9,22
80%	13,71	13,81	13,63	13,71
100%	16,09	15,97	16,05	16,03

Dari hasil pengujian pada gambar 7 dan tabel 3, kontrol positif menggunakan antibiotik kotrimoksazol terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 41,16 mm dan kontrol negatif menggunakan aquades steril tidak terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan pada bakteri *Escherichia coli*.

Dari hasil pengujian pada gambar 8, kontrol positif menggunakan antibiotik kotrimoksazol terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan pada bakteri *Shigella dysenteriae* dan kontrol negatif menggunakan aquades steril tidak terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan pada bakteri *Shigella dysenteriae*.



Gambar 8.  
Hasil Pengujian Kontrol Positif dan Kontrol Negatif terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*.

Tabel 4.  
Hasil Diameter Zona Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*

Jenis Kontrol	Diameter Zona Hambat
Kontrol Positif Kotrimoksazol	39,79 mm
Kontrol Negatif Aquades steril	-

Dari hasil pengujian pada gambar 8 data tabel 4, kontrol positif menggunakan antibiotik kotrimoksazol terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan pada bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar 39,79 mmdan kontrol negatif menggunakan aqudest steril tidak terbentuk zona bening atau menunjukkan adanya hambatan pada bakteri *Shigella dysenteriae*.

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah biji pepaya yang diambil dari tanaman buah pepaya jenis California yang sudah masak dengan ciri kulit dan daging buah yang berwarna orange, diambil dari salah satu petani di desa Merbau mataram, Kabupaten Lampung Selatan. Sebelumnya dilakukan penimbangan 300 gram serbuk biji pepaya yang sudah dikeringkan dan dihaluskan ditambah etanol 96% sebanyak 1500 ml kemudian didiamkan selama 24 jam sambil sesekali digojok setelah itu disaring, ampas filtrat di tambah etanol 96% dilakukan pengulangan tiga kali (*triplo*). Hasil semua ekstrak dikumpulkan lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan di *waterbath* sampai didapatkan ekstrak kental dengan bobot konstan.

Pada penelitian ini penulis menggunakan metode difusi sumuran

kelebihan metode ini yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan agar tetapi juga sampai bawah, sedangkan kekurangannya yaitu pada metode ini media sangat rentan terkontaminasi pada saat pembuatan lubang dan memasukan sampel karna sering membuka cawan dari pada metode seperti difusi disk.

Prinsip metode ini adalah membuat lubang pada agar yang telah diinokulasi dengan bakteri, kemudian larutan diteteskan pada lubang sumuran yang telah dibuat. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme terlihat adanya zona hambat (wilayah jernih) disekitar lubang sumuran.<sup>5</sup>

Pada penelitian ini digunakan aquades steril sebagai kontrol negatif dan antibiotik kotrimiksazol sebagai kontrol positif karena untuk pengobatan diare yang disebabkan oleh bakteri dapat digunakan antibiotik kotrimoksazol yang bersifat spektrum luas untuk bakteri gram positif dan gram negatif. Mekanisme kerja antibiotik kotrimoksazol adalah penghambatan sintesis protein DNA/RNA, akibatnya adalah terhentinya sintesa asam float yang merupakan bahan pangkal untuk sintesa purin dan DNA/RNA, sehingga pembelahan sel bakteri dihentikan.<sup>8</sup>

Tabel 5.  
Tabel Kepekaan (Resistensi) Kotrimoksazol terhadap  
Bakteri *Shigella dysenteriae*

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
≤ 10	Resisten
11-15	Intermediate
≥ 16	Sensitif

Berdasarkan tabel 5, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* bahwa ekstrak pada konsentrasi 60% dengan diameter 9,22 mm resiten terhadap bakteri yang berarti belum dapat dikatakan memiliki daya hambat (peka) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, pada konsentrasi 80% dengan diameter 13,71 mm ekstrak biji pepaya bersifat intermediate, sedangkan pada konsentrasi 100% dengan diameter 16,03 mm sensitif terhadap bakteri

sehingga dapat dipastikan ekstrak biji pepaya dapat menghambat (peka) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Sedangkan pada konsentrasi 20% dan 40% tidak menunjukkan adanya zona hambatan (wilayah jernih).

Dari hasil penelitian, ekstrak etanol biji papaya tidak terjadi hambatan yang bersifat sensitif menghambat bakteri *Escherichia coli* karena struktur dan sifat bakteri itu sendiri. *Escherichia coli* termasuk kedalam golongan gram negatif, sifat dari bakteri ini yang

membedakan dengan bakteri lainnya adalah susunan dinding selnya. Dinding sel bakteri pada gram negatif dinding selnya berlapis tiga yang terdiri dari lipoprotein, membran luar, fosfolipid dan lipopolisakarida, dan kandungan lipid pada dinding sel berkisar antara 11-22%. Selain itu, susunan dinding sel bakteri *Shigella dysenteriae* tidak diselubungi oleh kapsul dan bakteri ini tidak mengeluarkan gas yang patogen, sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* susunan dinding sel bakteri diselubungi oleh kapsul yang tebal dan bakteri ini mengeluarkan gas patogen serta menghasilkan asam dari sintesis tubuhnya. Hal ini yang menyebabkan komponen kimia yang bersifat antibakteri sulit menembus dinding sel bakteri. Oleh karena itulah tidak didapatkan hambatan pertumbuhan pada bakteri *Escherichia coli*.

Faktor lain penyebab tidak terdapat zona hambatan pada bakteri *Escherichia coli* dikarenakan pengaruh ekstraksi atau dalam pengerjaannya yang kurang hati-hati yang menyebabkan media terkontaminasi saat membuat lubang sumuran dan memasukan sampel sehingga komponen kimia yang bersifat antibakteri tidak terbentuk.

Dari hasil penelitian ini diketahui pada bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*, masing-masing konsentrasi ekstrak etanol biji pepaya mempunyai perbedaan pada zona hambatnya. Pada zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran yang berisi konsentrasi lebih tinggi memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan zona hambat disekitar lubang sumuran yang berisi konsentrasi lebih rendah. Ini membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji pepaya maka semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan, dan untuk pertolongan pada diare, biji pepaya dapat dijadikan obat alternatif tetapi tidak dapat menggantikan antibiotik.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol biji pepaya tidak dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*. Pada bakteri *Escherichia coli* tidak terdapat zona

hambatan pada konsentrasi 20% sampai 100% disetiap pengulangan

2. Ekstrak etanol biji pepaya dapat menghambat bakteri *Shigella dysenteriae*, dengan diameter rata-rata yaitu pada konsentrasi 100% sebesar 16,03 mm, konsentrasi 80% sebesar 13,71 mm dan konsentrasi 60% sebesar 9,99 mm sedangkan pada konsentrasi 40% dan 20% tidak terdapat zona hambat.

## SARAN

Perlu dilakukan kehati-hatian dalam penelitian menggunakan metode difusi sumuran karna metode ini rentan terkontaminasi. Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri terhadap biji pepaya dengan bakteri dan penyakit lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kusmiyati dan Agustini, N.W.S. 2006. Uji Akktifitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas vol.8 No.1*. Hal 48-53
2. Martiasih, Maria, et.al. 2012. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya Terhadap bakteri Escherichia coli dan Streptococcus pyogenes*. Yogyakarta; Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya.
3. Mulyono, L.M. 2013. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (Carica Papaya L) Terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Surabaya; Universitas Surabaya.
4. Paramesti, N.N. 2014. *Efektivitas Ekstrak Biji Pepaya (Carica papaya L) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Escherichia coli*. Jakarta; Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
5. Purnama R.C dan Retnaningsih A,. Uji Daya Hambat Air Rebusan Batang Sambiloto Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Shigella dysenteriae* Dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Analis Farmasi Vol.1 No.4*. Hal 238-243
6. Prayoga, E. 2013. *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle L.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*.

Jakarta; Fakultas Kedokteran dan  
ilmu Kesehatan Universitas Islam  
Negeri Syarif Hidayatullah1.  
Purnama R.C dan Retnaningsih A,.Uji  
Daya Hambat Air Rebusan Batang  
Sambiloto Terhadap Bakteri  
*Escherichia coli* Dan *Shigella*

*dysenteriae* Dengan Metode Difusi  
Sumuran. *Jurnal Analis Farmasi Vol.1  
No.4*. Hal 238-243

7. Tanu, I. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta; Gaya Baru.
8. Tjay, T.T & Raharja, K. 2013. *Obat-Obat Penting*. Jakarta; Gramedia.