

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air dari Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap *Escherichia coli*

Baiq Mitasari¹, Tatiana Siska Wardani¹, Anita Dwi Septiarini¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa, Surakarta, Indonesia

*E-mail: bmitasari@gmail.com

Abstrak

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tanaman pepaya (*Carica papaya L.*). Biji pepaya dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional. Pada biji pepaya juga terdapat senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare. Penyakit diare dapat disebabkan oleh berbagai bakteri, diantaranya bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air biji buah papaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan menggunakan metode difusi dan dilusi dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% serta kontrol positifnya adalah *Ciprofloxacin* dan kontrol negatifnya adalah DMSO 1%. Hasil dari pengujian ini yaitu ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, etil asetat dan fraksi air dari biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol biji buah pepaya merupakan fraksi paling aktif sebagai antibakteri pada konsentrasi 25% dengan diameter daya hambat 6 mm. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sulit ditentukan, karena fraksi etil asetat berwarna dan sulit menentukan hasil yang keruh dan jernih. Nilai dari Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang didapat adalah 25%.

Kata kunci : *Escherichia coli* ATCC 25922; *Carica papaya L.*; Difusi; Dilusi

Abstract

One of the plants that can be used as traditional medicine is papaya (*Carica papaya L.*). Papaya seeds can be used as traditional medicine. Papaya seeds also contain secondary metabolites that have antibacterial activity, which can inhibit the growth of bacteria that cause diarrhea. Diarrhea can be caused by various bacteria, including *Escherichia coli* bacteria. This study aims to determine whether the ethanol extract and n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction of papaya fruit seeds (*Carica papaya L.*) have antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 using the diffusion and dilution method with a concentration of 1%, 5 %, 10%, 15%, 20%, 25% and the positive control was *Ciprofloxacin* and the negative control was DMSO 1%. The results of this test are 96% ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate and water fraction from papaya fruit seeds (*Carica papaya L.*) have antibacterial activity against the growth of *Escherichia coli* ATCC 25922. Ethyl acetate fraction from ethanol extract of papaya seeds is the most active fraction as antibacterial was at a concentration of 25% with an inhibitory diameter of 6 mm. The value of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is difficult to determine, because the ethyl acetate fraction is colored and it is difficult to determine cloudy and clear results. The value of the Minimum Kill Concentration (MKC) obtained is 25%.

Keywords : *Escherichia coli* ATCC 25922; *Carica papaya L.*; Diffusion; Dilution

PENDAHULUAN

Bakteri *Escherichia coli* menghasilkan toksin yang dapat melekat dan merusak sel-sel mukosa usus halus. Gejala klinis yang paling sering terjadi dalam kasus infeksi ini antara lain diare berair, kram perut, demam ringan, mual, dan rasa tidak enak badan (Zukhri, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Ariani Novia *et al* (2019) menunjukkan hasil bahwa

ekstrak biji pepaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Ekstrak biji pepaya dengan konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5%, dan 10% dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan diperoleh rata-rata hambatan secara berturut-turut sebesar 3,6 mm, 4,44 mm, 5,56 mm, dan 6,65 mm. Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut untuk

mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari biji buah pepaya (*Carica papaya L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara difusi dan dilusi.

METODE

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi; blender (Kirin), ayakan nomor 100 mesh, gelas ukur (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), batang pengaduk, tabung reaksi (Iwaki, corong kaca (Pyrex), corong pisah (Pyrex), timbangan, waterbath, *Moisture Balance*, bunsen, *rotary evaporator*, autoklaf, jarum ose, cawan petri (Normax), rak tabung, chamber, kaca arloji, kotak septis (enkas), lampu spiritus, pipet ukur, spuit, inkubator, pinset. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi; biji buah pepaya, etanol 96%, *n*-heksan, etil asetat, air, *ciprofloxacin* 500 mg/tablet (Hexpharm Jaya), *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, media *Muller Hinton Agar*, media NB, DMSO 1%, logam Mg dan HCl, FeCl₃, H₂SO₄ (asam sulfat pekat), CH₃COOH (asam asetat).

Prosedur kerja

Pembuatan ekstrak etanol 96%

Serbuk simplisia 200 gram yang telah terbentuk dilakukan proses maserasi dengan melakukan perendaman menggunakan etanol 96 % selama 5 hari dengan perbandingan 1:10. Filtrat ekstrak biji pepaya di pekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental yang bebas dari pelarut.

Identifikasi senyawa fitokimia

1. Uji flavonoid

Sampel ekstrak ditambah dengan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ningsih *et al*, 2016).

2. Uji tannin

Sampel ekstrak ditambahkan dengan pereaksi FeCl₃. Reaksi positif

ditunjukan dengan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Maneak, 2018).

3. Uji saponin

Sampel ekstrak dilarutkan dalam aquades pada tabung reaksi ditambah 10 tetes KOH dan dipanaskan dalam penangas air 50 °C selama 5 menit, dikocok selama 15 menit. Jika terbentuk busa mantap setinggi 1 cm dan tetap stabil selama 15 menit menunjukkan adanya senyawa saponin (Ningsih dkk., 2016).

Identifikasi biokimia

SIM (*Sulfide Indol Motilitas*)

Biakan murni bakteri diinokulasi pada permukaan media dengan cara inokulasi tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk menguji adanya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif bila berwarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah reagen Ehrlich. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada bekas tusukan menggunakan jarum Ent. Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan sulfida negatif, indol positif, dan motilitas positif (- + +) (Maneak, 2018).

KIA (*Kliger Iron Agar*)

Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui fermentasi karbohidrat dan sulfida. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, terdapatnya gas serta terbentuknya warna hitam pada media. Uji positif bila pada bagian lereng akan berwarna merah (ditulis K), bagian dasar berwarna kuning (ditulis A), terbentuknya gas yang ditandai dengan pecahnya media (ditulis G+), sulfida positif terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan pada bagian lereng berwarna kuning, bagian dasar berwarna kuning, dan sulfida negatif atau tidak terbentuk warna hitam (A/A S-)

(Maneak, 2018).

LIA (Lisin Iron Agar)

Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya deaminasi lisin dan sulfida. Amati pada bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Reaksi positif ditunjukkan dengan lereng akan berwarna coklat (ditulis R). Berwarna ungu yang berarti suasannya basa (ditulis K), berwarna kuning yang berarti suasannya asam (ditulis A) disertai terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan adanya warna ungu pada bagian lereng, warna ungu pada bagian dasar tabung, dan sulfida negatif (K/K S-) (Maneak, 2018).

Sitrat

Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon. Uji ini positif bila media berwarna biru. Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan adanya warna hijau (-) (Maneak, 2018).

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak biji buah pepaya. Larutkan dengan pelarut air 75 mL, kemudian difraksinasi sebanyak 3 kali dengan *n*-heksana menggunakan corong pisah, fraksi *n*-heksana yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 mL. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat, kemudian uapkan dan residu yang didapat dari fraksi etil asetat adalah fraksi air kemudian diuapkan sampai pekat (Maneak, 2018).

Sterilisasi

Media yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan oven

pada suhu 170-180°C selama 2 jam. Alat-alat seperti jarum Ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Brooks *et al*, 2012).

Pembuatan Media

Sebanyak 11,4 gram Media *Mueller Hinton* agar dilarutkan dalam 300 ml aquadest dipanaskan sampai larut. Media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Dinginkan sampai suhu ± 50°C, selanjutnya dibagi ke dalam cawan petri steril. Setelah dingin, medium padat disimpan dalam kulkas (Vanessa, 2022).

Pembuatan Medium Nutrient Broth (NB)

Sebanyak 8 gram bubuk NB dilarutkan dengan 1 liter akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu medium NB disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Hudaya, 2014).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Biakan bakteri *Escherichia coli* didalam media MHA yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi NaCl steril 1 ml. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C selanjutnya kekeruhannya dibandingkan dengan 0.5 Mc Farland (Hudaya, 2014).

Pengujian Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* Metode difusi.

Ekstrak dan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol biji buah pepaya yang diperoleh diuji secara difusi ke bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam media MHA dengan metode perataan (*Spread Plate Method*). Medium didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi kedalam media. Kertas cakram direndam selama 15 menit dengan ekstrak etanol biji buah pepaya dan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dengan 5 seri konsentrasi yaitu 1%, 5%,

10%, 15%, 20% dan 25% *ciprofloxacin* 0,5% sebagai kontrol positif dan kontrol negatif pelarut DMSO 1%, dan kontrol normal tanpa penambahan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *ciprofloxacin* 0,5 %, masing-masing dengan volume 10 μ l. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Diameter zona hambat sekitar kertas cakram

Metode dilusi.

Metode tersebut menggunakan 13 tabung steril. Konsentrasi larutan stok yang dibuat adalah 50%, kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 1%. Secara aseptik dari larutan stok tersebut dibuat deret konsentrasi dibawahnya yaitu kontrol (-) ; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,095%; dan kontrol (+). Tabung pertama berisi kontrol normal, tabung kedua berisi kontrol negatif DMSO 1% tabung ketiga berisi larutan stok 50%, tabung keempat berisi larutan stok 25%, tabung kelima berisi larutan stok 12.5%, tabung keenam berisi larutan stok 6.25%, tabung ketujuuh berisi larutan stok 3.12%, tabung kedelapan berisi larutan stok 1.56%, tabung kesembilan berisi larutan stok 0.78%, tabung kesepuluh berisi larutan stok 0.39%, tabung ksebelas berisi larutan stok 0.19%, tabung keduabelas berisi larutan stok 0.095%, dan tabung ketiga belas berisi kontrol positif.

Media NB yang digunakan dimasukkan 0,5 mL pada tiap tabung kecuali tabung 2 (kontrol negatif). Secara aseptik, Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan dengan mengamati adanya kekeruhan pada seri pengenceran dari sejumlah tabung yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Tabung dengan larutan jernih setelah tabung keruh terakhir merupakan konsentrasi hambat

diukur dan dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri sekitar disk menandakan bahwa kandungan kimia biji pepaya memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 (Maneak, 2018).

minimum. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menginokulasikan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada media NB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan jamur dengan melihat ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh (Maneak, 2018).

Analisa Data

Data penelitian ini dianalisis dengan menggunakan SPSS 16.0, menggunakan uji One Way ANOVA (*Analysis of Varians*). Adanya perbedaan signifikan pada uji ditandai dengan nilai $p < 0,05$. Perbedaan signifikan ini menunjukkan bahwa fraksi biji pepaya tersebut berbeda secara signifikan terhadap kontrol positif dan analisia data dilakukan juga untuk menghitung KHM, KBM, Daya Hambat dan perhitungan Rf.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman pepaya ini dilakukan di Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Obat Dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) yang beralamat di Jalan Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Presentase serbuk biji pepaya yang diukur dengan alat *Moisture balance* yaitu 7,50 %. Kadar air memenuhi syarat bila suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Presentase rendemen ekstrak etanol 96% biji pepaya yang diperoleh sebanyak 9 %.

bebas dari pelarutnya yaitu etanol 96% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

Hasil identifikasi bebas etanol ekstrak

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa uji ekstrak kental biji pepaya sudah

Tabel 2. Hasil uji bebas etanol ekstrak biji pepaya

Uji bebas etanol	Pustaka (Manenak, 2018)	Hasil uji
Ekstrak biji pepaya + H_2SO_4 + CH_3COOH , dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol

Hasil identifikasi fitokimia**Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak biji pepaya**

Kandungan Kimia	Test	Pustaka	Hasil	Ket
Flavonoid	Ekstrak+Logam Mg dan Logam HCL	Terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ningsih dkk, 2016)	Terbentuk warna merah atau jingga	+
Tanin	Ekstrak+FeCL ₃	Reaksi positif ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Maneak, 2018)	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Saponin	Ekstrak+aquades+10 tetes KOH, dipanaskan	Jika terbentuk busa mantap setinggi 1 cm dan tetap stabil selama 15 menit menunjukkan adanya senyawa saponin (Ningsih dkk., 2016).	Terbentuk buih kurang dari 10 menit	-

Identifikasi kandungan metabolit sekunder (tabel 3) yang terdapat pada biji buah pepaya dengan uji fitokimia didapatkan hasil yaitu positif mengandung flavonoid, positif mengandung tannin, dan negative mengandung saponin. Pada uji saponin terdapat perbedaan hasil dengan jurnal

Ningsih *et al*, (2016) yang menyatakan positif mengandung saponin hal ini dikarenakan pada pengujian yang telah dilakukan tidak terbentuk buih stabil setinggi 1 cm selama 15 menit akan tetapi terbentuk buih selama kurang dari 10 menit.

Hasil identifikasi uji biokimia.**Tabel 4. Hasil identifikasi biokimia *Escherichia coli***

Pengujian	Hasil	Pustaka (Maneak, 2018)
KIA	A/AGS(-)	A/AGS(-)
SIM	-++	-++
LIA	K/KS(-)	K/KS(-)
CITRAT	-	-

Hasil identifikasi uji biokimia terhadap bakteri *Escherichia coli*

**Gambar 1. Identifikasi biokimia**

Dari pengujian yang telah dilakukan terdapat hasil yaitu, hasil positif uji KIA bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan pada bagian lereng berwarna kuning, bagian dasar berwarna kuning, dan sulfida negatif atau tidak terbentuk warna hitam (A/AG S-). Hasil positif uji SIM bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan sulfida negatif, indol positif, dan motilitas positif (- + +). Hasil positif uji LIA bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan adanya warna ungu pada bagian lereng, warna ungu pada bagian dasar tabung, dan sulfida negatif (K/K S-). Hasil positif uji SITRAT bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan adanya warna hijau (-).

Hasil Pengujian Metode difusi

Hasil dari fraksinasi dibuat konsentrasi yang digunakan dalam pengujian ini yaitu 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%. Kontrol positif yang digunakan yaitu ciprofloxacin dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif.

Metode dilusi

Tabel 5. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat biji pepaya secara dilusi terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922

Konsentrasi fraksi etil asetat (%)	Replikasi		
	I	II	III
Kontrol (-)	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	+	+	+
6,25%	+	+	+
3,12%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0,19%	+	+	+
0,095%	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan: (+): Ada pertumbuhan bakteri

(-) : Tidak ada pertumbuhan

Kontrol (-) : Fraksi etilasetat

Kontrol (+) : Suspensi bakteri + media NB

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan pada medium *Muller Hinton Agar* dengan konsentrasi minimum yang tidak

menunjukkan pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25992. Konsentrasi fraksi yang digunakan yaitu 50%; 25%; 12,5%;

6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,095%. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih. Hal ini sulit diamati karena fraksi yang digunakan terlihat pekat, sehingga perlu dilakukan inoculasi dalam medium selektif pada masing-masing tabung untuk mengetahui konsentrasi bunuh minimum (KBM). Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dari tabel 5 dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 25%.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, etil asetat dan fraksi air dari biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) merupakan fraksi paling aktif sebagai antibakteri. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sulit ditentukan, karena fraksi etil asetat berwarna dan sulit menentukan hasil yang keruh dan jernih. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang didapat adalah 25%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas antibakteri biji buah pepaya dengan menggunakan biji pepaya muda yang bewarna putih karena pada penelitian ini dilakukan penelitian dengan menggunakan biji pepaya tua/hitam.

DAFTAR RUJUKAN

- Ariani Novia, Monalisa, Dwi Rizki Febrianti. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. Program D III Farmasi. Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin.
- Brooks G F, Karen C C, Janet S B, Stephen A M dan Timothy A M . 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi ke-25*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz.E, J.L. Melnick dan E.A. Aldeberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika. Edisi 23. Ahli bahasa : Huriwati et al. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Maneak Elisbeth Irene, 2018. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi n Heksana, Etil Asetat, serta Air dari Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922*. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
- Ningsih R Dian, Zusfahair, Kartika D. 2016. *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri*. Universitas Jenderal Sudirman. Purwokerto
- Rahman, Fathul. 2016. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Bakteri*. Analis Kesehatan Politeknik Medica Farma Husada Mataram Indonesia.
- Zukhri, Saifudin. 2015. *Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, Motorik*, Vol.10 No.20.