



Potensi ekstrak daun *Carica pubescens* sebagai alternatif antidiare Bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae*

Potential of *Carica pubescens* leaf extract as alternative antidiare Bacteria for *Vibrio cholerae* and *Shigella dysenteriae*

Tri Dyah Astuti^{1a*}, Wahid Syamsul Hadi^{1b}

¹ Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Indonesia

^aEmail address: tridyah@unisayogya.ac.id

^bEmail address : dokterwahid@yahoo.co.id

HIGHLIGHTS

Carica Pubescens leaf extract with a concentration of 100% has a wider microbial inhibitory power

ARTICLE INFO

Article history

Received date : August 06th, 2018

Revised date : September 28th, 2018

Accepted date : December 31st, 2018

Keywords:

Carica Pubescens
Vibrio cholerae
Shigella dysenteriae
In Vitro

Kata Kunci:

Carica Pubescens
Vibrio cholerae
Shigella dysenteriae
In Vitro

ABSTRACT / ABSTRAK

Acute diarrhea is one of the main causes of morbidity and mortality. A people are starting to choose traditional medicines for alternative therapy. Traditional medicines or herbal medicines are considered safer and do not have side effects such as chemical drugs. The purpose of this study was to determine the anti-diarrhea effect of *Carica pubescens* leaf extract on the bacteria *Vibrio cholerae* and *Shigella dysenteriae*. This study was conducted by testing the activity of *Vibrio cholerae* and *Shigella dysenteriae* bacteria on *Carica pubescens* leaf extract with a well method, which results can be seen from the formation of inhibitory zones. The data obtained were processed using Two Way ANOVA test statistics. The results showed that the leaves extract of *Carica Pubescens* concentration of 100% had the best therapeutic effect because it had the greatest inhibitory power on the bacteria *Vibrio cholerae* and *Shigella dysenteriae*.

Diare akut merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas. Masyarakat mulai memilih obat tradisional atau obat herbal sebagai pengobatan alternatif. Obat tradisional atau obat herbal dinilai lebih aman dan tidak memberikan efek samping seperti obat kimia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek anti diare ekstrak daun *Carica pubescens* terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae*. Penelitian ini dilakukan dengan menguji aktivitas bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae* terhadap ekstrak daun *Carica pubescens* dengan metode sumuran yang hasilnya dapat dilihat dari terbentuknya zona hambat. Data yang diperoleh diolah menggunakan statistik uji Two Way ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun *Caricap pubescens* konsentrasi 100% mempunyai efek terapi terbaik karena mempunyai daya hambat terbesar terhadap bakteri *Vibrio cholerae* maupun *Shigella dysenteriae*.

***Corresponding Author:**

Tri Dyah Astuti
Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta,
Jln. Ring Road Barat No. 63 Mlangi, Nogotirto, Gamping, Sleman,
Yogyakarta, Indonesia.
Email: tridyah@unisayogya.ac.id



1. PENDAHULUAN

Penyakit diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan merupakan penyakit potensial terjadi Kejadian Luar Biasa (KLB) yang dapat disertai dengan kematian. Pada tahun 2017 terjadi 7.077.299 kasus diare yang tersebar di seluruh Indonesia. Provinsi Jawa Barat menempati kasus tertinggi penyakit diare sebanyak 1.297.021 dan disusul oleh Jawa Timur sekitar 1.060.910 kasus diare.¹

Diare akut merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada anak di berbagai negara berkembang termasuk di Indonesia. Terdapat 60 juta diare akut setiap tahunnya di Indonesia, 1 - 5% diantaranya akan menjadi diare kronik dan bila sampai terjadi dehidrasi berat yang tidak segera ditangani 50-60% diantaranya dapat meninggal dunia.²

Diare akut infeksi diklasifikasikan secara klinis dan patofisiologis menjadi diare non inflamasi dan diare inflamasi. Diare inflamasi disebabkan invasi bakteri dan sitotoksin di kolon dengan manifestasi sindroma disentri dengan diare yang disertai lendir dan darah. Gejala klinis yang menyertai keluhan abdomen seperti mulas sampai nyeri seperti kolik, mual, muntah, demam, tenesmus, serta gejala dan tanda dehidrasi. Pada pemeriksaan tinja rutin secara makroskopis ditemukan lendir dan atau darah, serta mikroskopis ditemukan sel leukosit polimorfonuklear.³

Tingginya angka kesakitan diare tersebut dapat disebabkan karena *foodborne infection* dan *waterborn infection* oleh bakteri *Shigella* sp., *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Campylobacter jejuni* yang tergolong dalam bakteri invasif dan *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholerae* yang tergolong dalam bakteri non invasif.⁴

Shigella dysenteriae termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif, tidak berkapsul dan tidak membentuk spora, aerob fakultatif, memfermentasi glukosa dengan membentuk asam tetapi jarang memproduksi gas.⁵ Penyakit yang disebabkan oleh *Shigella dysenteriae* adalah disentri basiler, yaitu suatu infeksi peradangan akut saluran pencernaan, dengan kondisi kronis meliputi diare, buang air besar berair yang disertai darah, lendir, dan nanah.⁶

Vibrio cholerae merupakan bakteri yang berbentuk batang bengkok seperti koma, gram negatif, tidak berspora, hidup secara aerob atau anaerob fakultatif, bergerak melalui flagel yang monotrik, tidak membentuk spora, dan pada biakan tua dapat menjadi berbentuk batang lurus.⁷ *Vibrio cholerae* Salah satu bakteri yang menyebabkan diare dan biasanya diare yang ditimbulkan disebut dengan diare kolera.⁸

Seiring berkembangnya pengetahuan terdapat peningkatan kecenderungan penggunaan obat tradisional sebagai alternatif pengobatan. Hal tersebut akibat kecenderungan masyarakat untuk menerapkan hidup sehat kembali ke alam atau sering disebut dengan "*back to nature*". Selain itu, didorong oleh sangat kecilnya efek samping obat tradisional serta harganya yang terjangkau oleh semua masyarakat.⁹

Tanaman yang berpotensi dijadikan sebagai sumber obat salah satunya adalah *Carica pubescens*. Tanaman ini merupakan tanaman lokal di dataran tinggi Dieng. Penduduk setempat menyebutnya dengan sebutan karika. Tanaman ini berkerabat dekat dengan pepaya pada umumnya (*Carica papaya*). Namun, mempunyai karakteristik yang berbeda. Bagian tanaman karika yang paling banyak dimanfaatkan adalah buahnya. Daun karika dapat menyembuhkan penyakit akibat cacing kremi, demam malaria, beri-beri, sariawan, sembelit, dan disentri amuba.¹⁰

Buah tanaman ini mengandung zat antioksidan yang mampu menangkal bahaya radikal bebas dan mengandung enzim pencernaan yang meningkatkan kerja alat pencernaan, absorpsi nutrisi, mengurangi stress pencernaan, menjaga pH, menjaga kesehatan usus serta menyeimbangkan enzim-enzim alami tubuh.¹¹

Berdasarkan hasil uji fitokimia daun *Carica pubescens* mengandung beberapa senyawa aktif seperti flavanoid, polifenol dan tanin, serta triterpenoid.¹² Selain kandungan tersebut daun *Carica pubescens* juga memiliki kandungan senyawa aktif cystein protease dan papain.¹³ Senyawa aktif lainnya yang terkandung dalam *Carica pubescens* adalah saponin triterpen¹⁴ serta kandungan antioksidan,¹⁵ sedangkan senyawa aktif pada daun *Carica pubescens* yang berpotensi sebagai antimikrobia, antara lain flavonoid, alkaloid, tanin dan fenol.¹⁶

Alkaloid merupakan golongan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam bentuk gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid biasanya tidak berwarna dan berbentuk kristal.¹⁷ Alkaloid merupakan senyawa nitrogen heterosiklik, diketahui memiliki aktivitas antimikrobia secara *in vivo*.¹⁸

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam semua tumbuhan berpembuluh, zat warna dalam bunga-bunga, batang maupun daun-daunan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya dan berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon.¹⁹ Secara *in vivo* flavonoid berfungsi sebagai antimikrobia dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler yang terdapat pada dinding sel bakteri, dimungkinkan hal tersebut menyebabkan rigiditas dari dinding sel mengalami penurunan. Sehingga mengakibatkan flavonoid mampu menerobos dinding sel.²⁰

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan polifenol. Tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.²¹ Senyawa fenolik merupakan senyawa yang penting karena merupakan kelas besar diantara senyawa-senyawa penyusun tanaman. Mekanisme antimikroba senyawa fenolik secara *in vivo* adalah dengan mengganggu kerja membran sitoplasma bakteri, termasuk diantaranya mengganggu transpor aktif dan kekuatan proton.²² Berdasarkan kandungan tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut potensi ekstrak daun *Carica pubescens* sebagai alternatif antidiare bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae*, serta belum adanya penelitian yang secara khusus menggunakan Karika dari Wonosobo sebagai alternative antidiare menyebabkan penelitian ini perlu dilakukan.

2. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap.

2.1 Bahan dan alat penelitian

Bahan yang digunakan adalah: ekstrak daun *Carica pubescens*, etanol 70%, aquadest, *Mueller Hinton Agar*, kertas cakram steril, kertas cakram antibiotik, NaCl fisiologis, dietil sulfoksida 5%, Brain Heart Infusion, bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae*. Peralatan yang digunakan berupa peralatan untuk ekstraksi.

2.2 Tahap penelitian

2.2.1 Preparasi pembuatan ekstrak daun *Carica pubescens*

Daun *Carica pubescens* sebanyak 1 kg dipotong-potong kemudian dimasukkan kedalam binder pada suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Daun yang sudah dibinder dihancurkan dengan blender sehingga menjadi serbuk daun carica yang halus. Serbuk daun carica selanjutnya dimasukkan dalam botol coklat sebanyak 200 g dan ditambah pelarut etanol 70% sebanyak 2L dan digojok selama 3 hari. Daun carica setelah digojok dilanjutkan dengan tahap penyaringan menggunakan vacuum dan kain flanel, hasil penyaringan dilanjutkan lagi dengan penyaringan menggunakan kertas saring. Hasil penyaringan dilanjutkan dengan vacuum evaporator untuk memisahkan etanol dengan ekstrak. Hasil ekstrak dilanjutkan lagi dengan dibinder selama 24 jam pada suhu 45°C untuk memekatkan hasil ekstraksi. Hasil ekstraksi selanjutnya dibuat konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12.5%.

2.2.2 Pembuatan Media dan Perbanyakkan Bakteri

Media *Brain Heart Infusion* digunakan untuk perbanyakkan bakteri, sedangkan media yang digunakan untuk pengujian aktivitas adalah media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Sebanyak 6 g media BHIB dilarutkan ke dalam 200 ml akuades, dipanaskan hingga terlarut secara sempurna dan diatur pH nya pada kisaran $7,4 \pm 0,2$. Selanjutnya dituang dalam tabung reaksi. Sedangkan untuk media MHA, sebanyak 38 g media MHA dilarutkan dalam 1000 ml akuades, dipanaskan hingga terlarut secara sempurna dan pH diatur pada kisaran $7,4 \pm 0,2$. Selanjutnya media tersebut disterilkan menggunakan autoklaf pada tekanan 1,5 atm, suhu 121°C selama 15 menit. Setelah media disterilkan, selanjutnya media tersebut disimpan pada suhu 4°C dan siap digunakan.²³

2.2.3 Pembuatan Larutan Standart *McFarland* 0,5

Sebanyak 0,5 mL $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,175 % ditambah dengan H_2SO_4 1% hingga volumenya 99,5 mL dan dihomogenkan. Kekeruhan dari larutan *McFarland* tersebut diperiksa dengan spektrofotometer dan diatur absorbansinya agar berada dalam kisaran 0,08-0,13 pada panjang gelombang 625 nm. Larutan tersebut disegel dan disimpan dalam ruang gelap pada suhu kamar. Sebelum digunakan, larutan tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Larutan *McFarland* tersebut akan dijadikan sebagai standart kekeruhan bakteri yang akan diuji aktivitasnya.²⁴

2.2.4 Penyiapan suspensi bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae*

BHI cair sebanyak 5 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan dengan tiga ose biakan bakteri selanjutnya di vortex. Hasilnya dibandingkan dengan *McFarland* 0,5 dan diamati kekeruhan yang terjadi. Jika pada media BHI terlihat terlalu keruh dari *McFarland* maka ditambah lagi jumlah media BHI nya, jika kurang keruh maka ditambahkan lagi suspensi bakterinya.

2.2.5 Uji aktivitas antibakteri

Suspensi bakteri yang telah dibuat pada media BHI, dioleskan (swab) pada media MHA sampai rata menggunakan kapas lidi steril, selanjutnya dibuat sumuran dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50% dan 100%.²⁵ Dan dibuat kontrol positif berupa *disk* antibiotik serta kontrol negatif berupa pelarut ekstrak, yaitu *dimethyl sulfoxide* (DMSO). Selanjutnya biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Daerah bening di sekitar sumuran yang berisi larutan uji diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong. Daerah bening tersebut

mengindikasikan bahwa ekstrak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri uji.²⁶

2.2.6 Analisis data

Diameter zona hambat ditunjukkan dengan adanya zona steril kemudian diukur menggunakan jangka sorong. Hasilnya kemudian dianalisis dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat normalitas data. Kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan karena ada dua faktor yang berpengaruh pada zona hambat. Dari uji ANOVA dua jalan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* untuk menentukan perlakuan yang terbaik yang sebelumnya sudah dilakukan uji kesamaan varian dengan uji *Levene*. Jika uji variannya sama maka dilanjutkan lagi dengan uji *SNK (Uji Student Newman-Keuls)*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae* diinokulasikan (*streak plate*) ke dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) kemudian pada sumuran diisi dengan kertas cakram yang sudah direndam pada ekstrak daun *Carica pubescens* dengan konsentrasi 100%, 50%, 25% dan 12,5% dan *disk* antibiotik, kemudian dilanjutkan dengan inkubasi 37°C selama 24 jam. Hasil dari inokulasi adalah sebagai berikut

Tabel 1. Hasil pengamatan zona hambat pada media plate

Bakteri	Kosentasi (%)	Perlakuanke- (cm)		
		1	2	3
<i>Vibrio cholera</i>	100	2,5	2,6	2,5
	50	2,0	2,3	2,2
	25	1,9	1,9	2,0
	12,5	1,8	1,8	1,9
	Antibiotik	2,5	2,5	2,5
<i>Shigella dysenteriae</i>	100	1,4	1,3	1,3
	50	0,7	0,8	0,8
	25	0,6	0,7	0,7
	12,5	0,7	0,6	0,6
	Antibiotik	1,7	1,7	1,7

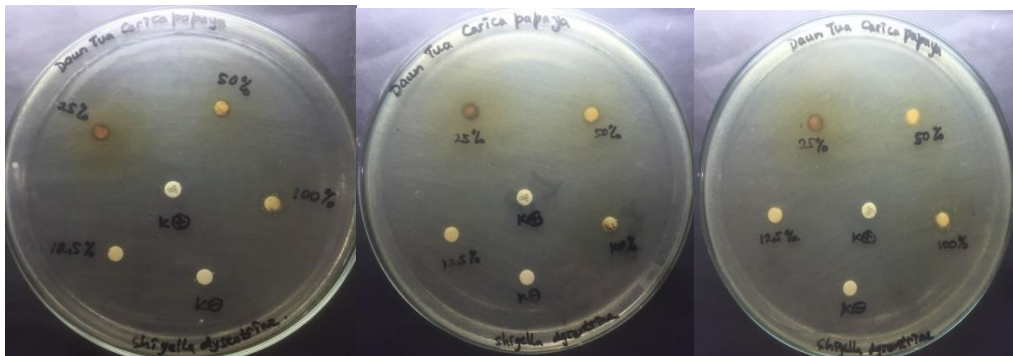
Dari tabel 1 terlihat ada perbedaan zona hambat pada konsentrasi ekstrak daun *Carica pubescens* dari konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5%. Gambaran hasil penelitian dari zona hambat bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigela dysenteriae* dari tabel diatas dapat terlihat dari gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas zona hambat ekstrak *Carica pubescens* terhadap bakteri *Vibrio cholerae*

Sumber: Data primer (2018)

Dari hasil sumuran diatas terlihat zona hambat terbaik yaitu pada kosentrasi 100% ekstrak daun *Carica pubescens*. Pada kosentrasi 100% ekstrak daun *Carica pubescens* menunjukkan hasil yang hampir sama dengan zona hambat antibiotik. Dari gambar tersebut juga terlihat semakin kecil kosentrasi ekstrak daun *Carica pubescens* semakin kecil zona hambat terhadap bakteri *Vibrio cholerae*.



Gambar 2. Hasil uji aktivitas zona hambat ekstrak *Carica pubescens* terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

Sumber: Data primer (2018)

Dari hasil sumuran terlihat zona hambat terbaik yaitu pada kosentrasi 100% ekstrak daun *Carica pubescens*. Pada kosentrasi 100% ekstrak daun *Carica pubescens* menunjukkan zona hambat yang lebih luas dari pada kosentrasi ekstrak daun *Carica pubescens* yang 50%, 25%, dan 12,5% sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kecil kosentrasi ekstrak daun *Carica pubescens* semakin kecil zona hambat terhadap bakteri *Vibrio cholerae*.

Tabel 2. Uji Two Way ANOVA

Bakteri	Kosentrasi Ekstrak 12,5%	Kosentrasi Ekstrak 25%	Kosentrasi Ekstrak 50%	Kosentrasi Ekstrak 100%
<i>Shigella dysentri</i>	0,633	0,667	0,800	1,333
<i>Vibrio cholera</i>	1,833	1,867	2,167	2,533

Dari tabel 2 terlihat pada konsentasi 100% nilai rerata zona hambat *Shigella dysentri* (1,333) dan *Vibrio cholerae* lebih besar (2,533). Uji dilanjutkan dengan uji SNK (uji Student Newman-Keuls). Hasil uji disajikan sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil Uji Student Newman-Keuls

Kosentrasi (%)	Jumlah	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
12,5	6	1,233		
25	6	1,267		
50	6		1,483	
100	6			1,933
Signifikansi		0,555	1,000	1,000

Dari tabel 3 terlihat zona hambat akibat konsentasi ekstrak daun *Carica pubescens* 100% adalah yang terbesar dan berbeda signifikan dari konsentasi lainnya. Maka konsentasi 100% adalah paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysentri* dan *Vibrio cholerae*. Berdasarkan hasil zona hambat ekstrak daun

Carica pubescens mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare *Shigella dysentri* dan *Vibrio cholerae*, selain itu ekstrak daun *Carica pubescens* juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare lainnya seperti penelitian yang dilakukan oleh Novalina (2013) menyatakan ekstrak *Carica pubescens* mampu menghambat pertumbuhan bakteri karena terdapat kandungan tanin, alkaloid, fenol dan flavanoid.

Penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan oleh Novalina (2013) memiliki persamaan pada variabel bebas yaitu menggunakan ekstrak daun *Carica pubescens* dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% untuk menghambat bakteri gram negatif (*E. coli* dan *S. flexneri*) penyebab diare. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan hasil zona hambat yang berbeda, sesuai dengan pereaksi yang digunakan dalam ekstraksi daun *Carica pubescens*. Pereaksi yang digunakan pada penelitian sebelumnya menggunakan Fraksi etil asetat dan n-heksan sedangkan penelitian ini menggunakan etanol 70%. Hasil dari penelitian sebelumnya dengan menggunakan pereaksi n-heksan terhadap bakteri *S. flexneri* konsentrasi 12,5% zona hambat 0,6 cm, konsentrasi 25% zona hambat 1,7 cm, 50% zona hambat 1,2 cm. Bakteri *E. coli* konsentrasi 12,5% zona hambat 0,6 cm, konsentrasi 25% zona hambat 1,0 cm, 50% zona hambat 0,8 cm, sedangkan pada pereaksi etil asetat bakteri *S. flexneri* konsentrasi 12,5% zona hambat 2,2 cm, konsentrasi 25% zona hambat 2,5 cm, 50% zona hambat 2,9 cm. Bakteri *E. coli* konsentrasi 12,5% zona hambat 1,1 cm, konsentrasi 25% zona hambat 1,3 cm, 50% zona hambat 1,6 cm. Penelitian yang dilakukan peneliti menunjukkan hasil yang berbeda pada pereaksi etanol 70% terhadap bakteri *Shigella dysentri* konsentrasi 12,5% zona hambat 0,7 cm, konsentrasi 25% zona hambat 0,7 cm, 50% zona hambat 0,8 cm, 100% zona hambat 1,4 cm, sedangkan pada bakteri *Vibrio cholerae* konsentrasi 12,5% zona hambat 1,9 cm, konsentrasi 25% zona hambat 2,0 cm, 50% zona hambat 2,3 cm, 100% zona hambat 2,6 cm.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Carica pubescens* dengan pereaksi dan konsentrasi yang berbeda memiliki efektivitas yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif penyebab diare.

4. SIMPULAN

Hasil uji potensi ekstrak daun *Carica pubescens* sebagai alternatif antidiare bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysentriae* secara *in vitro* menunjukkan konsentrasi ekstrak daun *Carica pubescens* 100% memiliki zona hambat yang terbesar dan berbeda signifikan dari konsentrasi lainnya. Maka konsentrasi 100% adalah konsentrasi yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri serta memiliki efek terapi terbaik bakteri *Shigella dysentri* maupun *Vibrio cholerae*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada DIKTI yang telah membiayai penelitian ini melalui hibah Penelitian Dosen Pemula. Terima kasih kepada Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta dan teknisi laboratorium yang telah membantu peneliti dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017.
2. Daldiyono, Marcellus KS, PAPDI. *Diare Akut: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 5th ed. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
3. Wilson WR, Drew WL, Henry NK. *Current Diagnosis and Treatment in Infectious*. New York: Lange Medical Books; 2003.

4. Sudoyo A, Setyohadi B, Alwi I. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 4th ed. Jakarta: Departemen IPD Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006.
5. Dewi N. Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Sainmatika*. 2015;2(1):1-7.
6. Pelczar MJ, Chan CS. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. 1st ed. Jakarta; 1998.
7. Chomvarin C, Namwat W, Wongwajana S, Alam W, Thaew-Nonningiew K, Engchanil C. Application of duplex-PCR in rapid and reliable detection of toxigenic *Vibrio cholerae* in water samples in Thailand. *Gen Appl Microbiol*. 2007;53:229-237.
8. Soemarsono H. *Kolera: Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1996.
9. Djauhariya E, Hernani. *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya; 2004.
10. Hidayat S. Prospek Pepaya Gunung (*Carica pubescens* Lenne & K. Koch) dari Sikunang, Pegunungan Dieng, Wonosobo. In: *Menggali Potensi Dan Meningkatkan Prospek Tanaman Hortikultura Menjadi Ketahanan Pangan Dalam Rangka Hari Cinta Puspa Dan Satwa Nasional*. Bogor: UPT Balai Pengembangan Kebun Raya-LIPI; 2000.
11. Rock R. Product Review - Wild Mountain Papaya Extract. http://www.associatedcontent.com/article/1987516/product_review_wild_mountain_papaya.html.
12. Minarno B. Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavonoid Pada Buah *Carica Pubescens* Lenne & K. Koch di Kawasan Bromo, Cangar, dan Dataran Tinggi Dieng. *Univ Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*. 2015;5(2).
13. Ainun NL, N. Khoiri Ahmad. Identifikasi Senyawa Antidiabetes Secara in Silico pada *Carica Pubescens* Lenne & K. Koch. *Univ Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*. 2016;5(4).
14. Minarno B. Analisis Kandungan Saponin Pada Daun dan Tangkai Daun *Carica Pubescens* Lenne & K. Koch. *Univ Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*. 2016;5(4).
15. Laily AN, Suranto, Sugiyarto. Characteristics of *Carica pubescens* of Dieng Plateau, Central Java according to its Morphology, Antioxidant, and Protein Pattern. *Univ Sebel Maret Surakarta*. 2012;4(1):16-21.
16. Novalina D. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Carica Pubescens* dari Dataran Tinggi Dieng terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Diare. *Tesis*. Universitas Sebelas Maret. 2013;1(1):1-12.
17. Fitriana S. Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Anthelmintik Ekstrak Daun Jarak (*Jatropha curcas* L.) terhadap Cacing *Ascaridia galli* secara in vitro. 2008.
18. Karou D. Antibacterial Activity of Alkaloids Arom *Sida Acuta*. *African J Biotechnol*. 2006;5(2):195-200.
19. Harborne JB. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. 2nd ed. Bandung: Institut Teknologi Bandung; 2006.
20. Fitrial Y, Astawan M, Soekarto SS, Wiryawan KG, Wresdiyati T, Khairina R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Teratai terhadap Bakteri Patogen Penyebab Diare. *J Teknol dan Ind Pangan*. 2008;19(2):158-164.
21. Sari FP, Sari SM. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha Multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. 2011.
22. Harborne JB. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. 2nd ed. (Kosasih P, Iwang S, eds.). Institut Teknologi Bandung; 1987.
23. Kumar GVP, Subrahmanyam SN. Phytochemical Analysis, in-vitro Screening for Antimicrobial and Anthelmintic Activity of Combined Hydroalcoholic Seed Extracts of Four Selected Folklore Indian Medicinal Plants. *Sch Res Libr*.

-
- 2013;5(1):168-176.
24. [European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing \(EUCAST\). Antimicrobial Susceptibility Testing: EUCAST Disk Diffusion Method.](#)
 25. Poeloengan M, Andriyani I, Komala, Hasnita M. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (*Lagerstremia speciosa* Pers) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. In: *Seminar Nasional Teknologi Perternakan Dan Veteriner*. Bogor: Central Library of Bogor Agricultural University; 2007.
 26. [Ahmed D, Waheed A, Chaudhary MA, Khan SR, Hannan A, Barkaat M. Nutritional and Antimicrobial Studies on Leaves and Fruit of *Carissa opaca* Stapf Ex Haines. *EJEAFChe*. 2010;9\(10\):1631-1640.](#)