



Formulasi dan uji aktivitas antibakteri sediaan *spray* mikroemulsi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis*

Formulation and antibacterial activity of microemulsion spray of papaya leaf extract (Carica papaya L.) towards Staphylococcus epidermidis

Leny, Siti Fatimah Hanum, Sariyah Nur Eka Wati, Lilis Sundari
Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia, Medan, Indonesia

ABSTRACT

Papaya leaves (Carica papaya L.) contain antibacterial compounds, based on previous studies, the antibacterial active substances in papaya leaves have been tested against several bacteria from in vitro method. Papaya leaves contain tannins, alkaloids, flavonoids, saponins and terpenoids. The purpose of this study is to formulate a microemulsion preparation from papaya leaf extract and to determine the effect of papaya leaf extract microemulsion preparation on the antibacterial activity of Staphylococcus epidermidis. This research was done by making microemulsions of papaya leaf extract at 5% (F1), 10% (F2) and 15% (F3) concentration, which were then tested for organoleptic test, homogeneity test, microemulsion type, stability, pH value, particle size analyzer and bacterial inhibition test by using the well diffusion method. The results showed that all preparations met the requirement of physical characteristics of microemulsion and was stable during accelerated stability test. The result of inhibition test against Staphylococcus epidermidis showed that F1 and F2 had moderate inhibition, F3 had a strong inhibitory power which is 10,1 mm.

Keywords: *Microemulsion; papaya leaf extract; Staphylococcus epidermidis*

ABSTRAK

Daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki senyawa antibakteri, berdasarkan penelitian sebelumnya zat aktif antibakteri dalam daun pepaya telah diuji terhadap beberapa bakteri secara in vitro. Daun pepaya mengandung tanin, alkaloid, flavonoid, saponin dan terpenoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk memformulasikan sediaan mikroemulsi dari ekstrak daun pepaya dan untuk mengetahui adanya pengaruh sediaan mikroemulsi ekstrak daun pepaya terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini dilakukan dengan membuat mikroemulsi ekstrak daun pepaya pada konsentrasi 5% (F1), 10% (F2) dan 15% (F3), yang kemudian diuji organoleptis, homogenitas, tipe mikroemulsi, stabilitas, pH, ukuran partikel dan uji daya hambat bakteri dengan menggunakan metode difusi sumuran. Hasil uji sediaan mikroemulsi menunjukkan bahwa sediaan memenuhi karakteristik fisik sediaan mikroemulsi dan stabil selama pengujian stabilitas dipercepat. Hasil uji daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan F1 dan F2 mempunyai daya hambat sedang, F3 mempunyai daya hambat kuat yaitu sebesar 10,1 mm.

Kata Kunci: *Mikroemulsi; ekstrak daun pepaya; Staphylococcus epidermidis*

Korespondensi: **Leny**, Institut Kesehatan Helvetia, Jl Kapten Sumarsono No 107, Medan, Sumatera Utara, Indonesia, telp: 08197202027, *e-mail*: leny@helvetia.ac.id

PENDAHULUAN

Daun pepaya mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat antiseptik, antiinflamasi, antifungal dan antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam daun pepaya diantaranya tanin, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin (1).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki aktivitas farmakologi sebagai antelmintik, antimalaria, antibakteri, dan antiinflamasi (2). Zat aktif antibakteri dalam daun pepaya telah diuji terhadap beberapa bakteri, secara *in vitro* diantaranya terhadap bakteri patogen yang menginfeksi dan merugikan manusia (3). Pada penelitian sebelumnya daun pepaya mampu menghambat *E.coli*, koloni bakteri *Shigella dysenteriae*, dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai KHM (Kadar Hambat Minimal) pada konsentrasi 10% (4,5).

Pengembangan formulasi ekstrak menjadi bentuk sediaan topical akan memudahkan penggunaannya dan meningkatkan nilai ekonomi (6). Pengembangan dalam sistem penghantaran obat secara transdermal dalam bentuk mikroemulsi dapat menjaga kestabilan dan efektivitasnya. Mikroemulsi secara topikal lebih mudah menembus ke dalam kulit karena memiliki ukuran droplet yang kecil dan mempunyai kestabilan lebih baik dibandingkan emulsi biasa (7).

Mikroemulsi adalah suatu sistem dispersi minyak dengan air yang distabilkan oleh lapisan antarmuka dari molekul surfaktan. Surfaktan yang digunakan dapat tunggal, campuran atau kombinasi dengan zat tambahan lain (8). Mikroemulsi merupakan suatu sistem dispersi yang dikembangkan dari sediaan emulsi namun memiliki banyak kelebihan yaitu stabil secara termodinamika, mempunyai tampilan jernih, transparan atau *translucent*. Mikroemulsi juga memiliki viskositas yang rendah, serta mempunyai tingkat solubilisasi yang tinggi sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas obat di dalam tubuh (9). Sebelumnya belum ada pengembangan dari ekstrak daun pepaya yang diformulasikan menjadi bentuk mikro yang mempunyai penetrasi

lebih baik.

Keuntungan mikroemulsi tidak hanya pada pembuatannya yang mudah dan dengan biaya yang murah, namun sediaan topikal mikroemulsi dapat meningkatkan kecepatan permeasi obat (10). Oleh karena itu, dari penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan sediaan daun pepaya menjadi mikroemulsi yang mudah digunakan dan mempunyai aktivitas antibakteria yang baik.

METODE

Alat dalam penelitian ini adalah timbangan digital, alat-alat gelas, rotary evaporator, *Particle Size Analyzer* (PSA), *laminar air flow*, cawan petri, *hotplate*, mikropipet, autoklaf, inkubator, pH meter Hanna, oven, botol semprot, lemari pendingin, *magnetic stirrer*, jangka sorong, kertas saring *whatman*, *blue-tipe*. Bahan dalam penelitian ini adalah daun pepaya (*Carica papaya* L.), yang didapatkan dari Namorambe, Deli Serdang, Medan, media *Nutrient Agar* (NA), NaCl, pelarut etanol 96%, PEG 400, tween 80, *olive oil*, nipagin, aquadest, larutan dapar 4 dan 7, *metilen blue* dan DMSO.

Pembuatan simplisia daun pepaya

Daun pepaya ditimbang 5 kg kemudian disortasi basah kemudian dirajang lalu dikeringkan di lemari pengering dengan suhu 37°C. Setelah itu sampel yang telah dikeringkan disortasi kering, ditimbang dan didapatkan 2,5 kg. Simplisia kemudian diserbukkan dengan blender, disimpan dalam toples dan sampel siap untuk diekstraksi (11).

Pembuatan ekstrak daun pepaya

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 500 gram, dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% selama 5 hari sebanyak 3,75 liter pada suhu ruangan. Kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu ampas dimaserasi kembali dengan etanol 96% sebanyak 1,25 liter selama 2 hari. Kemudian

disaring kembali, maserat I dan II digabung lalu diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C (12). Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang hasilnya 35,98 gram dan disimpan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari.

Pembuatan formulasi sediaan mikroemulsi

Nipagin dilarutkan dengan aquadest menggunakan *hotplate*, kemudian ditunggu hingga dingin. Ekstrak dilarutkan ke dalam larutan nipagin dengan kecepatan rendah menggunakan *magnetic stirrer* (sesuai dengan konsentrasi pada masing-masing formula). Kemudian surfaktan (tween 80) dan kosurfaktan (PEG 400) dicampur menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan 1300 rpm. Larutan ekstrak nipagin dicampurkan ke dalam campuran surfaktan (tween 80) dan kosurfaktan (PEG 400) lalu *olive oil* ditambahkan setetes demi setetes. Kemudian campuran dihomogenkan pada kecepatan 1300 rpm selama 3 jam hingga homogen selama 24 jam dan terbentuk mikroemulsi yang jernih dan transparan, lalu mikroemulsi yang terbentuk disonikasi selama 30 menit (13). Jumlah bahan dapat dilihat pada rancangan Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi sediaan mikroemulsi

| Bahan | Konsentrasi | | | |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | F0 ² | F1 ³ | F2 ⁴ | F3 ⁵ |
| EDP ¹ | - | 5 | 10 | 15 |
| Olive oil | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Tween 80 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Nipagin | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| PEG 400 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Aquadest ad | 100 | 100 | 100 | 100 |

¹EDP = Ekstrak daun pepaya;

²F0 = Blanko/mikroemulsi tanpa ekstrak daun pepaya;

³F1= Mikroemulsi dengan ekstrak daun pepaya 5%;

⁴F2= Mikroemulsi dengan ekstrak daun pepaya 10%;

⁵F3= Mikroemulsi dengan ekstrak daun pepaya 15%.

Evaluasi karakteristik fisik mikroemulsi

Sediaan mikroemulsi blanko dan mikroemulsi yang mengandung ekstrak daun pepaya kemudian diuji organoleptis, uji homogenitas, uji tipe mikroemulsi, uji stabilitas, uji pH dan uji ukuran partikel, serta uji aktivitas antibakteri.

Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Untuk pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* yaitu dengan cara biakan *Staphylococcus epidermidis* diambil dengan kawat ose steril, kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9% hingga diperoleh kelarutan yang sama dengan konsentrasi kelarutan Mc.Farland (14).

Uji antibakteri

Pada media agar yang telah dibuat ditambahkan 0,1 ml larutan biakan bakteri aktif dan dihomogenkan kemudian dibiarkan hingga memadat. Dibuat sumuran menggunakan alat pencadangan sumuran dengan diameter ±6mm, sumuran dibuat tegak lurus dengan permukaan media dengan kedalaman 0,1 g. Masing-masing sumuran diatur jaraknya, agar daerah pengamatan tidak saling bertindih. Dimasukkan sediaan mikroemulsi ekstrak etanol daun pepaya pada masing-masing sumuran dan diberi tanda (15).

HASIL

Sediaan mikroemulsi menunjukkan tampilan yang homogen, tidak terdapat gumpalan maupun pemisahan sediaan. Formula F0 menunjukkan warna kuning jernih dan transparan, F1, F2, F3 menunjukkan warna hijau kecoklatan dan transparan. Namun semakin tinggi konsentrasi maka semakin pekat warna coklat pada sediaan. Tampilan fisik sediaan mikroemulsi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sediaan mikroemulsi blanko serta mikroemulsi ekstrak daun pepaya konsentrasi 5%, 10%, dan 15%

Hasil pengujian tipe emulsi menunjukkan keempat mikroemulsi merupakan tipe emulsi minyak dalam air (oil in water atau o/w).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua sediaan mikroemulsi pada penyimpanan suhu rendah 4°C dan suhu tinggi 40°C selama enam siklus tidak mengalami perubahan bau, warna, kejernihan, dan

pemisahan fase. Ketiga sediaan mikroemulsi yang mengandung ekstrak masih tetap jernih, berwarna sama dengan saat selesai dibuat, beraroma khas, dan tidak mengalami pemisahan fase.

Hasil pengukuran pH sediaan mikroemulsi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Pengukuran pH sediaan mikroemulsi ekstrak daun pepaya sebelum dan selama penyimpanan

| Formula | pH sebelum <i>cycling test</i> | pH selama <i>cycling test</i> | | | | | |
|---------|-----------------------------------|-------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | Siklus 1 | Siklus 2 | Siklus 3 | Siklus 4 | Siklus 5 | Siklus 6 |
| F0 | 6,5 | 6,7 | 6,8 | 6,9 | 6,9 | 6,4 | 6,4 |
| F1 | 6,4 | 6,3 | 6,8 | 6,8 | 6,6 | 6,3 | 6,3 |
| F2 | 6,3 | 6,2 | 6,4 | 6,7 | 6,5 | 6,1 | 6,0 |
| F3 | 6,1 | 6,2 | 6,2 | 6,5 | 5,8 | 5,9 | 5,8 |

Hasil pengujian aktivitas antibakteri mikroemulsi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji antibakteri sediaan mikroemulsi terhadap *Staphylococcus epidermidis*

| | Diameter zona bening (mm) | | Rata-rata (mm) | |
|-----------------|------------------------------|------|----------------|------|
| | F0 | 0 | 0 | 0 |
| F1 | 4,4 | 6,5 | 5,3 | 5,4 |
| F2 | 7,5 | 8,4 | 7,7 | 7,9 |
| F3 | 9,5 | 11,3 | 9,6 | 10,1 |
| Kontrol Positif | 19,0 | 19,0 | 19,5 | 19,1 |

Pengukuran partikel yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Ukuran partikel mikroemulsi

| Formula | Ukuran partikel (nm) |
|---------|----------------------|
| F0 | 0,05480 |
| F1 | 0,21064 |
| F2 | 0,43410 |
| F3 | 0,63373 |

PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan uji homogenitas pada sediaan mikroemulsi menunjukkan bahwa semua sediaan tidak memperlihatkan adanya butiran kasar saat ditetaskan pada kaca transparan. Hal ini menunjukkan bahwa semua sediaan mikroemulsi yang dibuat memiliki susunan yang homogen (16).

Pada penentuan tipe emulsi, sediaan mikroemulsi

mampu terdispersi ke dalam air dan mempunyai warna biru yang merata. Dari hasil ini ditunjukkan bahwa semua sediaan memiliki tipe emulsi minyak dalam air. Hal ini dapat dilihat dari zat warna metilen biru yang larut dan berdifusi merata ke seluruh bagian sediaan permukaan, juga pada metode pengenceran dapat dilihat semua sediaan terdispersi ke dalam air. Hal ini juga dapat disebabkan karena sebagian besar dari komponen yang terdapat di dalam formula bersifat hidrofilik seperti tween 80 dan PEG 400 (17).

Evaluasi kestabilan dilakukan dengan menggunakan metode *cycling test*. Dalam evaluasi mikroemulsi ada beberapa parameter yang dilihat yaitu perubahan penampilan fisik seperti bau, warna, kejernihan, pemisahan fase, dan pH dari formula tersebut (18). Tidak adanya perubahan sediaan mikroemulsi blanko dan mikroemulsi yang mengandung ekstrak daun pepaya dalam hal warna, bau, dan tanpa pemisahan fase menunjukkan bahwa semua sediaan mikroemulsi stabil secara fisik setelah melewati uji stabilitas *cycling test*.

Pada pengukuran pH sediaan mikroemulsi, hasil menunjukkan sedikit penurunan pH pada masing-masing formula yang ditambahkan dengan variasi konsentrasi ekstrak, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak membuat pH dari sediaan mikroemulsi semakin

rendah. Namun pH sediaan masih sesuai dengan pH kulit 4,5-6,5 sehingga aman digunakan dan tidak menyebabkan iritasi pada kulit (19).

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 3, diperoleh bahwa F1, F2 dan F3 mampu menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Zona hambatan pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* kontrol positif adalah 19,1 mm (kuat) sedangkan untuk blanko kosong tidak memperoleh zona hambat sama sekali. Mikroemulsi dengan ekstrak daun pepaya 5% adalah 5,4 mm (sedang) mikroemulsi dengan ekstrak daun pepaya 10% adalah 7,9 mm (sedang) dan mikroemulsi dengan ekstrak daun pepaya 15% adalah 10,1 mm (kuat). (20). Zona hambat terbesar terhadap *Staphylococcus epidermidis* terjadi pada konsentrasi 15%. Kategori kekuatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk yaitu diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat (21).

Adanya aktivitas antibakteri pada sediaan dikarenakan adanya flavonoid yang telah diketahui untuk berfungsi sebagai antibakteri. Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik yang mengandung gugus hidroksil pada cincin karbonnya, dan mempunyai aktivitas sebagai antimikroba dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari bakteri (22) Selain itu kandungan tanin sebagai antibakteri bekerja pada dinding polipeptida sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati (23).

Berdasarkan hasil dengan PSA, F0 termasuk dalam kategori nano emulsi. Terjadi peningkatan ukuran partikel dengan penambahan konsentrasi ekstrak namun sediaan masih tergolong dalam kategori mikroemulsi karena masih berada dalam rentang 1-1000 nm (24).

SIMPULAN

Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dapat diformulasikan ke dalam bentuk sediaan mikroemulsi yang stabil selama penyimpanan stabilitas dipercepat. Sediaan mikroemulsi ekstrak daun pepaya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

SARAN

Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dapat dikombinasikan dengan ekstrak lain yang telah teruji mempunyai aktivitas antibakterinya sehingga dapat meningkatkan daya hambatnya terhadap bakteri patogen lainnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Institut Kesehatan Helvetia yang telah membantu hingga terlaksananya penelitian ini dengan nomor SK hibah Surat Keputusan Rektor Institut Kesehatan Helvetia Nomor: 023/SK/RKTR/IKH/II/2021.

DAFTAR PUSTAKA

1. A'yun Q, Laily AN. Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Kendalpayak, Malang. In: Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam. Malang 2015. p. 134-137.
2. Aruljothi S, Uma C, Sivagurunathan P, Bhuvaneshwari M. Investigation on Antibacterial Activity of *Carica papaya* Leaf extracts against Wound Infection-causing bacteria. *International Journal of Research Studies in Biosciences* 2014; 2(11): 8-12.
3. Tuntun M. Uji efektivitas ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Analisis Kesehatan Tanjungkarang* 2016; 7(3):497-502.
4. Nuridanti L, Subarna SS, Suhendy H, Yuliana A, Setiawan F. Perbandingan formula sediaan gel hand sanitizer dengan zat aktif ekstrak etanol daun pepaya (*Carica folium L.*) dan ekstrak etanol biji pepaya (*Carica semen L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacopolium* 2020; 3(3): 136-143.
5. Hertanti SR, Suswati I, Setiawan I. Efek anti mikroba ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *shigella dysenteriae* secara

- in vitro dengan metode dilusi tabung dan dilusi agar. *Saintika Medika* 2015; 11(1): 1-8.
6. Pamudji JS, Darijanto ST, Rosa S. Formulasi dan Evaluasi Mikroemulsi Minyak dalam Air Betametason 17-Valerat. *Acta Pharmaceutica Indonesia* 2012; 37(4):146-152.
 7. Jha SK, Dey S, Karki R. Microemulsions Potential Carrier for Improved Drug Delivery. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 2011; 1(1):5-11.
 8. Talegaonkar S, Azeem A, Ahmad FJ, Khar, RK, Pathan SA, Khan ZI. Microemulsions: A Novel Approach to Enhanced Drug Delivery, Recent Patents on Drug Delivery & Formulation 2018; 2: 238-257.
 9. Mandal A, Bera A. Surfactant Stabilized Nanoemulsion: Characterization and Application in Enhanced Oil Recovery. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* 2012; 6(7): 537-542.
 10. Pathan, M., Zikriya, A., Quazi A. Microemulsion: As Excellent Drug Delivery System. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars* 2012; 1(3):199-210.
 11. Soranta, Wahyu E. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya L*) terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus* Multiresisten Antibiotik. Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2009.
 12. Rega MAP, Tamara Y. Daya Anti Bakteri Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus Faecalis*. *Journal Unair* 2016; 6(2):1-6.
 13. Leny, Karsono, Harahap U. Comparison of Vitamin C (Magnesium Ascorbyl Phosphate) Formulation in Nanoemulsion Spray and Cream as Anti-aging. *International Journal of PharmTech Research* 2016; 9(9):399-407.
 14. Retnaningsih A, Primadhamanti A, Marisa I. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanaol Biji Pepaya terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Analisis Farmasi* 2019; 4(2):122-129.
 15. Arista Y, Kumesan N, Yamlean PVY, Supriati HS. Formulasi Dan Uji Aktivitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (*Crinum Asiaticum L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara in Vitro. *Pharmacon J. Ilmu Farm-UNSRAT* 2013; 2(2):2302-493.
 16. Leny, Ginting EE, Hafiz I. Formulation and Evaluation of Candlenut (*Aleurites moluccana L.*) Oil in Gel Preparation. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development* 2020; 8(5):41-43.
 17. Iskandar B, Karsono, Silalahi J. Preparation of Spray Nanoemulsion and Cream Containing Vitamin E as Anti-aging Product Tested in Vitro and in Vivo Method. *International Journal PharmTech Research* 2016; 9(6): 307-308.
 18. Ginting M, Fitri K, Leny, Lubis BK, Formulasi dan uji efektifitas anti-aging dari masker clay ekstrak etanol kentang kuning (*Solanum tuberosum L.*). *Jurnal Dunia Farmasi* 2020; 4(20):68-75.
 19. Iskandar B, Putri DD, Firmansyah, F., Frimayanti, N., Agustini, TT. Evaluasi sifat fisik dan uji kelembaban sediaan losion yang dijual secara online shop. *Jurnal dunia farmasi* 2019; 4(1): 8-16.
 20. Muctaromah B, Ahmad M, Romaidi, Nazilah LA, Naja NA. Antibacterial activity of water and ethanol extract of *Allium sativum*, *Curcuma mangga*, and *Acorus calamus* combination. *Journal of Biological Researches* 2018; 24(1):8-17.
 21. Rastina, Sudarwanto M, Wientarsih I. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* *Jurnal Kedokteran Hewan* 2015; 9(2):185-188.
 22. Milah N, Bintari SH, Mustikaningtyas. Pengaruh Konsentrasi Antibakteri Propolis terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* secara In Vitro. *Life Science* 2016; 5(2):95-99.
 23. Sapara TU, Waworuntu U, Juliatri. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) Terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon* 2016; 5(4): 10-17.
 24. Ishraga A, Karamella A, Christina Y. The Effect of Added Papain on the Encapsulated of Liquid Lemon Oil Emulsion Particle with Gum Arabic. *Science Journal Publication* 2015; 219: 4.