



Aktivitas antibakteri kulit buah karika dieng terhadap *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli*

Antibacterial activity of karika dieng peels againts *Shigella flexneri* and *Escherichia coli*

Dhiah Novalina^{1a*}, Sugiyarto², Ari Susilowati²

¹ Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Indonesia

² Universitas Sebelas Maret Surakarta, Indonesia

^a Email: dhiah.novalina@gmail.com

HIGHLIGHTS

Ethyl acetat fraction with concentration of 50% showed the best antibacterial activity

ARTICLE INFO

Article history

Received date : July 27th, 2018

Revised date : October 28th, 2018

Accepted date : December 31st, 2018

Keywords:

Karika;
Peels;
Antibacterial

Kata Kunci:

Karika;
Kulit Buah;
Antibakteri;

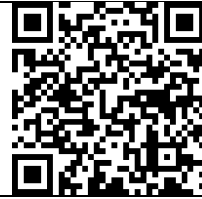
ABSTRACT / ABSTRAK

Karika is an endemic plant of Dieng Plateau. The leaf of Karika has been studied to have antibacterial activity against bacteria that cause diarrhea, while the peels are removed or used as a mixture of animal feed. This study aims to determine the antibacterial activity of Karika peels against bacteria that cause poisoning, *i.e* *Shigella flexneri* and *Escherichia coli*. The sample fractionated to obtain the fraction of n-hexane and ethyl acetate. The fractions were tested for their antibacterial activity against *Shigella flexneri* and *Escherichia coli* by the cup-plate method. The results showed that the ethyl acetate fraction (ethyl acetate 50%) had the highest inhibition on *Shigella flexneri* and *Escherichia coli* compared with another concentration. Based on the study can be concluded that the peels of Karikahas antibacterial activity against *Shigella flexneri* and *Escherichia coli*.

Karika merupakan tanaman endemik Dataran Tinggi Dieng. Daun Karika telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab diare, sedangkan kulit buah dibuang atau dijadikan campuran pakan ternak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kulit buah Karika terhadap bakteri penyebab keracunan, *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli*. Sampel difraksinasi untuk memperoleh fraksi n-heksan dan etil asetat. Fraksi diuji aktivitas antibakteri nya terhadap bakteri *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli* dengan metode sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dengan konsentrasi 50% memiliki daya hambat tertinggi terhadap *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli* dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa kulit buah Karika memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli*.

***Corresponding Author:**

Dhiah Novalina
 Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta,
 Jln. Ring Road Barat No. 63 Mlangi, Nogotirto, Gamping, Sleman
 Yogyakarta, Indonesia.
 Email: dhiah.novalina@gmail.com



1. PENDAHULUAN

Keracunan dapat berasal dari bahan makanan yang mengandung racun atau akibat bakteri pada makanan tersebut. Keracunan akibat bakteri disebabkan oleh ketidakhigienisan saat proses pengolahan makanan. Bakteri-bakteri yang dapat menyebabkan keracunan makanan antara lain: *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Salmonella sp*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sp* dan *Staphylococcus aureus*. Tingkat kontaminasi bervariasi hingga mencapai 24 – 48%.¹ Kontaminasi bakteri pada makanan dan minuman dapat menyebabkan berbagai macam penyakit.^{2,3} Penyakit-penyakit tersebut umumnya mudah menyerang orang yang mengalami penurunan daya tahan tubuh.⁴

Karika (*Carica pubescens*) merupakan tanaman endemik Dataran Tinggi Dieng, Wonosobo Jawa Tengah. *Carica pubescens* berkerabat dekat dengan *Carica papaya*. Ukuran buah Karika lebih kecil dibandingkan pepaya umumnya, bentuk buahnya bulat telur dengan berat 100 – 150 g, panjang 6 – 10 cm, dan diameter 3 – 5 cm. Buah Karika memiliki lima sudut yang memanjang dari ujung hingga pangkal buahnya. Kulit buah Karika berwarna kuning bila sudah masak, permukaannya licin, tebal dan bergetah.⁵ *Carica pubescens* digunakan sebagai bahan pembuatan selai dan minuman alkohol di Amerika Selatan. Buah yang masih muda dimanfaatkan sebagai obat penyakit cacing dan bahan kosmetik, setelah dikeringkan dan dibuat serbuk. Papain dalam Karika dapat digunakan dalam industri farmasi, makanan dan minuman. *Carica pubescens* dimanfaatkan sebagai sabun cuci pakaian di Hawaii. Di daerah Dieng, Karika dibiarkan terbuang dan jumlahnya melimpah.⁶

Belum ada penelitian tentang Karika di luar negeri, namun telah banyak penelitian tentang aktivitas antibakteri *Carica papaya* yang merupakan kerabat dekat Karika. Berdasarkan penelitian di luar negeri, kulit buah *Carica papaya* diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *C. diphtheria*, *S. pneumoniae*, *B. substilis*, *C. perfringens*.⁷ Pada penelitian lainnya *C. papaya* telah diteliti biji, daun dan akarnya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*.^{8,9} Pada penelitian lainnya, *C. papaya* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*.¹⁰

Di Indonesia sudah terdapat beberapa penelitian tentang Karika, misalnya aktivitas antibakteri daun Karika terhadap bakteri penyebab diare,¹¹ aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol daun Karika terhadap *Salmonella typhi* secara in vivo dan in vitro.¹² Pada penelitian lainnya, ekstrak etanol 70% kulit buah Karika tidak menunjukkan aktivitas antibakteri *Salmonella typhi*¹³ oleh sebab itu perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri kulit Karika dengan kemurnian ekstrak yang lebih baik, yaitu berupa fraksi dari ekstrak sampel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah Karika terhadap *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli* serta untuk mengetahui jenis fraksi terbaik dari ekstrak kulit buah Karika yang berpotensi sebagai antibakteri *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli*.

2. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

2.1. Desain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan melakukan pengujian efektivitas antibakteri yang dimiliki oleh Karika dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 6 kelompok perlakuan (fraksi n-heksan 50%, fraksi n-heksan 25%,

fraksi n-heksan 12,5%, fraksi etil asetat 50%, fraksi etil asetat 25%, fraksi etil asetat 12,5%), kontrol positif dan kontrol negatif. Pada masing-masing perlakuan dilakukan 5 kali pengulangan.

2.2. Lokasi penelitian

Sampel kulit buah Carica diperoleh dari Koperasi Serba Usaha Carica di kota Wonosobo. Selanjutnya preparasi sampel kulit buah Karika dilakukan di UPT Laboratorium Pusat Universitas Sebelas Maret. Tahap ekstraksi sampel dilakukan di B2P2TOOT Tawangmangu. Tahap fraksinasi ekstrak dan uji antibakteri dilakukan di UPT Laboratorium Pusat Universitas Sebelas Maret.

2.3. Bahan dan alat penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: kulit buah *C. pubescens* yang diperoleh dari Koperasi Serba Usaha Carica di kota Wonosobo. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi antara lain: n-heksan (Merck), etil asetat (Merck), etanol absolute (Merck). Bakteri uji yang digunakan adalah *Shigella flexneri* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* EPEC 0111 dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: ekstraktor Perkolasi (Iwaki), gelas beker (Iwaki), timbangan (AT4000 Mettler Toledo), oven (Memmert), *petri dish*, erlenmeyer (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), *waterbath* (Haake 15W), *Laminair Air Flow*, inkubator (P-Selecta), labu erlenmeyer (Iwaki), autoklaf (P-Selecta Presoclave 75), *VacumRotary Evaporator R-210* (Buchi Zwitserland), *Vortex Mixer (V-300)*, *UV-Visible Spectrofotometer (UV-160 1PC Shimadzu)*.

2.4. Koleksi/tahapan penelitian

2.4.1. Preparasi Sampel

Sampel berupa kulit buah Karika diperoleh dari usaha agribisnis Koperasi Serba Usaha (KSU Carica). Sampel kulit buah Karika dicuci bersih dan dikeringkan dalam oven pada suhu 37°C. Pengeringan kulit buah Karika dilakukan hingga beratnya konstan. Kulit buah Karika yang telah konstan beratnya, selanjutnya diblender hingga berbentuk serbuk.

2.4.2. Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk kulit buah Karika diekstrak menggunakan metode perkolasi. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 70%. Filtrat yang diperoleh dari ekstraksi selanjutnya dievaporasi di atas *waterbath* hingga berbentuk pasta. Ekstrak yang telah berbentuk pasta selanjutnya difraksinasi dengan etil asetat dan n-heksan. Pada proses fraksinasi tersebut dihasilkan 2 fraksi, yaitu fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan. Fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dipekatkan dengan oven pada suhu 40°C hingga berbentuk pasta.⁹ Selanjutnya larutan dari fraksi etil asetat dan n-heksan tersebut digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli*.

2.4.3. Uji Aktivitas Antibakteri

Fraksi n-heksan dan etil asetat dari Kulit Karika diuji aktivitasnya terhadap bakteri *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli* dengan metode *Cup-plate Method* berdasarkan metode yang direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Metode ini digunakan untuk menentukan diameter zona hambat oleh ekstrak terhadap bakteri yang diujikan.¹⁴ Inokulum bakteri yang telah disamakan dengan larutan standart *MacFarland* 0,5, dioleskan secara *swab* pada media MHA dengan *cotton bud* steril.¹⁵ Pada media tersebut dibuat 8 sumuran. Sumuran tersebut terdiri dari kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan n heksan konsentrasi 50%, n-heksan konsentrasi 25% dan n-heksan konsentrasi 12,5%, etil asetat konsentrasi 50%, etil

asetat konsentrasi 25% dan etil asetat konsentrasi 12,5%. Pada kontrol negatif, sumuran diisi dengan larutan DMSO yang merupakan pelarut dari ekstrak. Pada kontrol positif digunakan *disk* antibiotik, dalam hal ini antibiotik ampisilin. Pada perlakuan konsentrasi, sumuran masing-masing diisi 40 μ L ekstrak (n-heksan dan etil asetat). Selanjutnya biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran diukur diameternya dengan jangka sorong. Zona bening tersebut mengindikasikan bahwa senyawa kimia pada sampel Karika mampu menghambat bakteri yang diujikan.¹⁰ Data berupa diameter zona hambat sampel terhadap bakteri selanjutnya dianalisis secara statistik.

2.5. Analisis data

Data penelitian berupa diameter zona bening dianalisis secara statistik menggunakan *one way Anova*. Beda nyata antar perlakuan diuji menggunakan DMRT dengan signifikansi 99%.

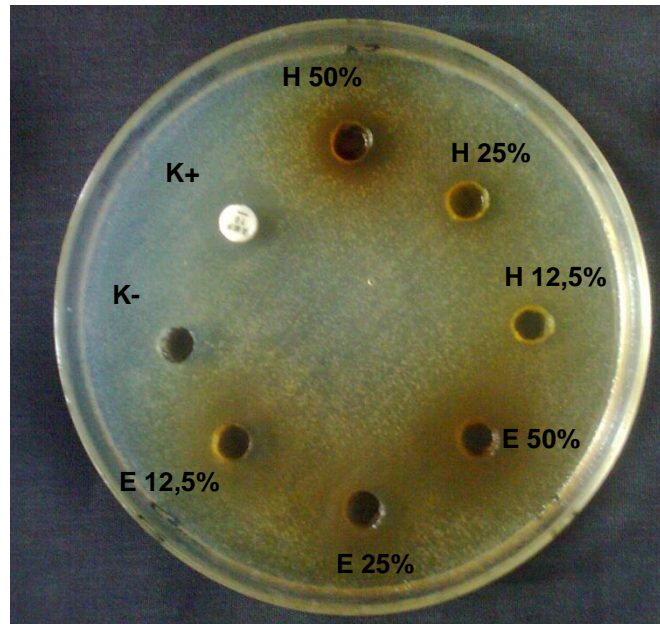
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data kuantitatif berupa diameter zona hambat yang terbentuk akibat penghambatan ekstrak sampel kulit buah Karika terhadap bakteri uji. Kepekaan bakteri uji ditandai dengan besar diameter zona jernih yang terbentuk. Makin besar zona jernih makin peka bakteri uji terhadap senyawa antimikroba tersebut.¹⁶ Dari uji aktivitas antibakteri diperoleh data diameter zona hambat pada biakan bakteri seperti pada [tabel 1](#).

Tabel 1. Diameter Zona Hambat pada Biakan Bakteri Uji

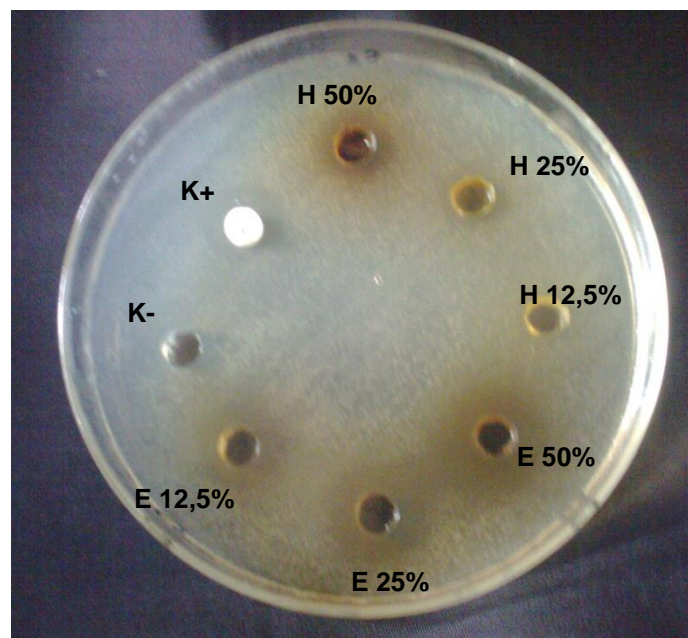
Jenis Fraksi	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>S. flexneri</i>	<i>E. coli</i>
n-heksan 50%	8	0
n-heksan 25%	6	0
n-heksan 12,5%	4	0
Etil asetat 50%	13	13
Etil Asetat 25%	11	10
Etil asetat 12,5%	9	11
Kontrol negatif	0	0
Kontrol positif	17	18

Fraksi n-heksan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. flexneri*, tetapi tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* pada semua konsentrasi. Aktivitas penghambatan tertinggi fraksi n-heksan terhadap *S. flexneri* terjadi pada konsentrasi 50% sebesar 8 mm. Pada [Tabel 1](#), diketahui bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. flexneri* dan *E. coli* pada semua konsentrasi. Fraksi etil asetat pada konsentrasi 50% memberikan daya hambat tertinggi terhadap *S. flexneri* dan *E. coli* sebesar 13 mm, selanjutnya daya hambat tertinggi kedua terhadap *S. flexneri* terjadi pada konsentrasi 25% dan yang memiliki daya hambat terendah terjadi pada konsentrasi 12,5%. Daya hambat tertinggi kedua terhadap *E. coli* terjadi pada konsentrasi 12,55, sedangkan daya hambat terendah terhadap *E. coli* terjadi pada konsentrasi 25%. Secara umum berdasarkan fraksinya, fraksi etil asetat (konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%) menunjukkan daya hambat yang lebih baik dibandingkan dengan fraksi n-heksan (konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%) terhadap bakteri yang diujikan. Hal tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada fraksi etil asetat yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-heksan.



Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak Kulit Buah Karika pada Biakan *Shigella flexneri*
Sumber: Novalina (2013)

Pada penelitian ini juga digunakan antibiotik sebagai kontrol positif, yaitu ampicilin. Dari diameter zona hambatnya diketahui ekstrak kulit buah Karika belum mampu melampaui aktivitas ampicilin dalam menghambat *S. flexneri* dan *E. coli*. Namun perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah Karika pada konsentrasi 100% terhadap bakteri yang sama, agar bisa dilihat potensinya bila dibandingkan dengan antibiotik.



Gambar 2. Zona Hambat Kulit Buah Karika pada Biakan *Escherichia coli*
Sumber: Novalina (2013)

Diameter zona hambat pada masing-masing fraksi dianalisis menggunakan *one way Anova*. Berdasarkan analisis tersebut diketahui bahwa fraksi n-heksan dengan fraksi etil asetat memberikan pengaruh berbeda secara signifikan terhadap bakteri

yang diujikan pada ekstrak kulit buah Karika. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memberikan daya hambat yang tinggi dibandingkan dengan fraksi n-heksan. Pada penelitian lainnya yang serupa, semua ekstrak etil asetat daun dan kulit batang tanaman mangrove menunjukkan daya hambat tertinggi dibandingkan ekstrak petroleum eter, kloroform, etanol dan air.¹⁷ Penelitian lain menyatakan bahwa ekstrak etil asetat memberikan penghambatan yang relatif tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksan terhadap bakteri-bakteri penyebab diare yang diujikan.¹⁸ Pada penelitian lainnya, fraksi etil asetat *Satureja graeca* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.¹⁹ Pada penelitian terhadap *Tabebuia rosea* dan *Tarchonanthus camphoratus*, ekstrak dari fraksi etil asetat juga menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik terhadap *Salmonella typhi*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*.^{20,21} Bahkan pada penelitian lainnya menyatakan fraksi etil asetat dari ko-kultur *Streptomyces* sp. berpotensi sebagai senyawa antimikrobia dan antikanker yang baik.²²

Hal ini terjadi berkaitan dengan sifat senyawa fitokimia yang diujikan dengan sifat struktur dinding sel bakteri. Senyawa fitokimia yang terekstrak ke dalam etil asetat bersifat semipolar. Senyawa semipolar tersebut memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk berinteraksi dengan dinding sel bakteri yang tidak bersifat absolut hidrofobik dan absolut hidrofilik. Suatu senyawa yang memiliki polaritas optimum akan memiliki afinitas optimum.²³ Senyawa yang memiliki afinitas optimum akan memiliki afinitas antimikrobia yang optimum, karena untuk dapat berinteraksi antara senyawa antimikrobia dengan bakteri yang diujikan membutuhkan keseimbangan antara hidrofilik dan hidrofobik. Pengamatan di bawah mikroskop elektron aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dari *Pseudomonas* sp. UJ-6 terhadap MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) ditemukan bahwa fraksi etil asetat dari *Pseudomonas* sp. UJ-6 mampu melisis dinding sel dari MRSA.²⁴ Selain itu pada penelitian lainnya, fraksi etil asetat biji teratai menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. typhimurium* meski sudah diberikan perlakuan pemanasan.²⁵

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa ekstrak kulit Karika memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli*. Fraksi etil asetat dari Karika memiliki daya hambat lebih tinggi daripada fraksi n-heksan. Saran bagi penelitian selanjutnya, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri serupa secara in vivo.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Prof. Dr. Suranto, PhD, Dr. Edwi Mahajoeno, Staf Laboratorium Galenika B2P2TOOT Tawangmangu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pracoyo N. E., dan Parwati D. *Analisis Mikrobiologik Beberapa Jenis Makanan Jajanan (Moko) di DKI Jakarta*. Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran; 2006.
2. Siagian A. *Mikroba Patogen pada Makanan dan Sumber Pencemarannya*. Medan: USU Digital Library; 2002.
3. Coleman ME, Marks HM, Golden NJ, Latimer HK. Discerning Strain Effects in Microbial Dose-Response Data. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2004; 67: 667-85
4. Lesmana M. *Enterobacteriaceae: Salmonella & Shigella*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti; 2003.
5. Dewi SK. *Analisis Strategi Pengembangan Usaha Industri Kecil Olahan Carica*. Departemen Agribisnis Fakultas Ekonomi dan Manajemen. Institut Pertanian Bogor: Bogor; 2009.

6. Hidayat S. *Prospek Pepaya Gunung (Carica pubescens Lenne & K. Koch) dari Sikunang, Pegunungan Dieng, Wonosobo*. UPT Balai Pengembangan Kebun Raya LIPI: Bogor; 2000.
7. Muhamad SAS, Jamilah B., Russly AR and Faridah A. In vitro antibacterial activities and composition of Carica papaya cv. Sekaki/ HongKong Peel Extracts. *International Food Research Journal*. 2017; 24(3): 976-984.
8. Nirosha N and Mangalanayaki R. Antibacterial Activity of Leaves and Stem Extract of Carica papaya L. *IJAPBC*. 2013; 2(3).
9. Peter JK, Kumar Y, Pandey P and Masih H. Antibacterial Activity of Seed and Leaf Extract of Carica papaya var Pusa Dwarf Linn. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2014; 9(2): 29-37.
10. Wilda Y, Satryani FM, Maemonah S, Badriyah, Christyaningsih J. The Inhibitory Effect of Carica papaya cv. Thailand Leaf Extract to the Growth of Enterococcus faecalis In Vitro. *Scholars Journal of Dental Sciences*. 2017; 4(6):262-266 .
11. Novalina Dhiah, Sugiyarto, Susilowati A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Carica Pubescens Dari Dataran Tinggi Dieng Terhadap Bakteri Penyebab Diare. *El-Vivo*. 2013; 1(1): 1-12.
12. Alfiah I. *Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Karika Terhadap Salmonella typhi secara in Silico dan in vitro*. Malang: Jurusan biologi Universitas islam negeri Maulana Malik Ibrahim Malang; 2016.
13. Putri GI dan Nurhayani. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Carica (Carica pubescens) Terhadap Bakteri Salmonella typhi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta; 2018.
14. Puspawati N. *Aktivitas Antimikroba dan Profil Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Meniran Merah (Phyllanthus urinaria) dan Hasil Fraksinasinya terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923*. Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret: Surakarta; 2011.
15. Ahmed D, Waheed A, Chaudhary MA, Khan SR, Hannan A and Barkaat M. Nutritional and Antimicrobial Studies on Leaves and Fruit of Carissa opaca Stapf Ex Haines. *EJEAF Che.* 2010; 9 (10): 1631-1640.
16. Kumala S, Shanny F dan Wahyudi P. Aktivitas Antimikroba Metabolit Bioaktif Mikroba Endofitik Tanaman Trengguli (Cassia fistula L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2006; 3(2): 97-102.
17. Abeyasinghe PD. Antibacterial Activity of some Medicinal Mangroves against Antibiotic Resistant Pathogenic Bacteria. *Indian J. Pharm. Sci.* 2010;72 (2): 167-172.
18. Fitriani Y, Astawan M, Soekarto SS, Wiryawan KG, Wresdiyati T, Khairina R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Teratai Terhadap Bakteri Patogen Penyebab Diare. *J. Teknologi dan Industri Pangan*. 2008;19(2).
19. Boutellaa S, Zellaoui A, Baaziz N and Hallis Y. Assessment of Antimicrobial Activity of Ethyl Acetate and n-butanol Extracts from Satureja graeca L. growing in Algeria. *Der Pharmacia Lettre*. 2016; 8(19):462-465 .
20. Solomon S, Muruganantham N, Senthamilselvi MM. Antimicrobial Activity of Tabebuia rosea (bunga). *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*. 2016; 5(2): 2018-2022.
21. Wetungu MW., Matasyoh JC, Kinyanjui T. Antimicrobial activity of solvent extracts from the leaves of Tarchonanthus camphoratus (Asteraceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014; 3(1): 123-127.
22. Haque U, Rahman A, Haque A, Sarker AK, Islam AU. Antimicrobial and Anticancer Activities of Ethyl Acetate Extract of Co-culture of Streptomyces sp. ANAM-5 and AIAH-10 Isolated From Mangrove Forest of Sundarbans, Bangladesh. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016; 6(02):051-055.

23. Kanazawa A, Ikeda T and Endo T. A novel Approach to Mode of Action of Cationic Biocides Morphological Effect on Bacterial Activity. *J. Appl. Bacteriol.* 1995; 78: 55-60.
24. Lee Dae-Sung, Sung-Hwan E, Jae-Young J, Young-Mo K, Myung-Suk L and Young-Man K. Antibacterial Activity of an Ethyl Acetate Extract of *Pseudomonas* sp. UJ-6 against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Fish Aquat Sci.* 2013;16 (2): 79-84.
25. Fitriani Y. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) Akibat Pemanasan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 2011; 14(1): 43-48.