

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *METHICILLIN RESISTANT Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

Cokorda Istri Dyah Yustika Dewi¹, Desak Ketut Ernawati², Ida Ayu Alit Widhiartini²

¹Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali

²Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali
Email: cektikaa@gmail.com

ABSTRAK

Staphylococcus aureus merupakan salah satu patogen yang menjadi penyebab utama infeksi nosokomial. *Staphylococcus aureus* merupakan ancaman serius dikarenakan resistensinya terhadap antibiotik *metichillin* sehingga disebut juga sebagai *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Namun obat pilihan saat ini menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, oleh karena itu perlu dikembangkan sumber lain untuk terapi MRSA. Salah satu tanaman yang potensial untuk MRSA adalah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) terhadap pertumbuhan MRSA secara *in vitro*. Penelitian ini adalah *True Experimental Post Test Only Group Design* dengan metode *disc diffusion* untuk menilai zona hambat dari ekstrak dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 50% yang dibuat terhadap bakteri MRSA dengan 6 kali pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh konsentrasi 10%, 20%, dan 50% secara berturut-turut yaitu $9,50 \pm 0,54$ mm, $12,33 \pm 0,81$ mm, dan $14,66 \pm 1,50$ mm. berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh berpengaruh terhadap diameter zona hambat MRSA yang dihasilkan dari percobaan secara *in vitro*.

Kata kunci : *Syzygium aromaticum L.*, zona hambat, MRSA

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is one of pathogens which may cause of nosocomial infection. *Staphylococcus aureus* is a serious threat due to its resistance to the antibiotic methicillin so it is also referred to as Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). However, the current choice of drugs has undesirable side effects, so other sources of MRSA therapy need to be developed. One of the potential plants for MRSA is clove leaves (*Syzygium aromaticum L.*). This study aims to determine the antibacterial activity of clove leaves ethanol extract (*Syzygium aromaticum L.*) on the growth of MRSA. This study is a *True Experimental Post Test Only Group Design* with *disc diffusion* method to assess inhibition zones of extracts with concentrations of 10%, 20%, and 50% made against MRSA bacteria with 6 repetitions. The results showed that the mean inhibition zone diameters produced by concentrations of 10%, 20%, and 50% respectively were 9.50 ± 0.54 mm, 12.33 ± 0.81 mm, and 14.66 ± 1.50 mm. It can be concluded that the increase in the concentration of ethanol extract of clove leaves affects the diameter of the MRSA inhibition zone resulting from *in vitro* experiments.

Keywords: *Syzygium aromaticum* L., inhibitory zone, MRSA

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan salah satu patogen yang menjadi penyebab utama infeksi nosokomial, *Staphylococcus aureus* adalah bakteri grampositif dan merupakan salah satu flora normal manusia pada selaput mukosa dan kulit, infeksi bakteri ini bersifat oportunistik, dapat menyebabkan infeksi lokal pada kulit, hidung, vagina, uretra, dan saluran pencernaan.¹ Apabila *Staphylococcus aureus* menyebar dan terjadi bakterimia, maka kemungkinannya akan terjadi osteomyelitis hematogenus akut, endocarditis, infeksi paru-paru, dan meningitis.²

Centers for Disease Control and Prevention menyebutkan bahwa saat ini *Staphylococcus aureus* merupakan ancaman serius dikarenakan resistensinya terhadap berbagai antibiotik golongan betalaktam, dimana salah satunya antibiotik metichillin sehingga disebut juga sebagai *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).³ Di berbagai rumah sakit di Indonesia, prevalensi infeksi MRSA terus meningkat. Dari tahun 2001 sampai 2017 terjadi peningkatan kasus MRSA sebanyak 7,95%. Antimikroba yang digunakan untuk mengatasi infeksi MRSA saat ini adalah vancomycin.⁴

Vancomycin merupakan *drug of choice* untuk terapi MRSA, akan tetapi *vancomycin* dilaporkan memiliki efek samping berupa peningkatan *nephrotoxicity* dan *red man syndrome*.⁵ Oleh karena itu kini banyak penelitian yang berfokus dalam pengembangan dan pemanfaatan potensi efek antibakteri dari bahan-bahan alami.⁶

Salah satu tanaman obat yang berpotensi untuk MRSA adalah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) yang memiliki sifat antibakterial, serta mengandung senyawa *flavonoid*, *tannin*, *saponin*, dan *eugenol* yang dipercaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.⁶

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental post test only with control group design* dimana variabel terikat dan variabel bebas diamati hanya satu kali. Penelitian ini

dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas MIPA dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dari Agustus 2019 sampai dengan September 2019.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun cengkeh, bakteri MRSA ATCC 3351, *Mueller Hinton Agar* (MHA), cawan petri, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, pinset, mikropipet, kapas lidi steril, batang pengaduk, inkubator, *vacuum rotary evaporator*, autoklaf, timbangan digital, api bunsen, jangka sorong, sendok, masker, sarung tangan, spidol, kamera, oven, kompor, blender, jangka sorong dan alat tulis.

Sampel daun cengkeh yang diperoleh Banjar Gentuh, Desa Madenan, Singaraja dibuat ekstrak dengan cara sebanyak 1200 gram daun cengkeh dibersihkan menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3 hari. Simplicia disortasi kering dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplicia daun cengkeh kemudian disimpan pada media gelap tertutup. Sebanyak 67 gram simplicia disortasi kering kemudian dimaserasi dengan 1500ml pelarut etanol 96% atau sampai terendam selama 3 x 24 jam, tutup dengan aluminium foil sambil sesekali diaduk, ekstrak kemudian disaring lalu diremaserasi dengan 1500ml etanol 96% setiap 1 x 24 jam dengan disertai pengadukan, lalu hasil refluks disaring menggunakan kertas saring Whatman untuk memisahkan residu dan *filtrat*-nya, kemudian *filtrat* dipekatkan dengan *Rotatory evaporator* dengan suhu 40°C. Kemudian untuk menguapkan pelarut etanol yang masih tercampur ekstrak diuapkan dengan *Water bath* pada suhu 40°, sehingga diperoleh 5,7gram ekstrak murni cengkeh. Hasil ekstrak ditempatkan pada media gelap tertutup dan terhindar dari paparan cahaya matahari langsung, dan dimasukkan ke dalam *refrigerator* kemudian dilakukan uji fitokimia menggunakan 1 gram ekstrak etanol daun cengkeh, 4,7 gram sisanya diencerkan menggunakan etanol 96% dalam berbagai konsentrasi yaitu: 10%, 20%, dan 50%.

Kultur bakteri dilakukan dengan penanaman spesimen dalam cawan agar darah dengan suhu 35°C selama 24 jam dan dilihat

morfologinya, kemudian dilakukan identifikasi bakteri dilakukan dengan kultur, pewarnaan gram, uji katalase, uji MSA (*Mannitol Salt Agar*) dan uji kerentanan.

Sebelum uji daya hambat ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.), disk kosong direndam selama 15 menit pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) yang dibuat, larutan kontrol negatif dan kontrol positif. Pada larutan kontrol negatif, disk direndam dalam larutan etanol 96% sedangkan pada larutan kontrol positif, disk direndam pada larutan *vancomycin* 30 µg. Tahapan selanjutnya adalah mempersiapkan kultur bakteri dengan kekeruhan standar 0.5 McFarland (1×10^8 CFU/ml). Bakteri kemudian dioleskan secara merata ke *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan menggunakan *swab* kapas steril lalu didiamkan selama 30 menit pada suhu ruangan. Masing-masing disk yang mengandung: 1) *Vancomycin* (30µg); 2) etanol 96%; 3) ekstrak etanol daun cengkeh 10%; 4) ekstrak etanol daun cengkeh dengan konsentrasi 20%; 5) ekstrak etanol daun cengkeh dengan konsentrasi 50%, kemudian ditempelkan di media MHA dengan jarak antar disk minimal 15 mm dan sedikit ditekan menggunakan pinset. Disk yang sudah ditempelkan pertama kali tidak boleh dipindahkan atau digeser. Media kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong dengan mengukur zona bening yang timbul pada cawan petri.

Data dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS, kemudian diolah dan disajikan dalam bentuk tabel beserta narasi. Penelitian ini telah mendapat izin kelayakan etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan nomor surat 405/UN14.2.2.VII.14/LP/2019.

HASIL

Hasil dari penelitian ini menunjukkan adanya daya hambat ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap pertumbuhan MRSA ATCC 3351 secara *in vitro*. Hal ini dinyatakan dengan terbentuknya zona bening di area sekitar disk yang mengandung ekstrak daun cengkeh dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 50% (Gambar 1).

Zona hambat yang terbentuk pada masing-masing perlakuan memiliki diameter

yang berbeda-beda. Pengamatan pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk kemudian dihitung dengan menggunakan rumus untuk mencari rerata zona hambat lalu disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.



Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk pada media MHA

Keterangan :

- : Disk yang mengandung etanol 96% sebagai kontrol negatif
- + : Disk yang mengandung *vancomycin* sebagai kontrol positif
- 10% : Disk yang mengandung ekstrak daun cengkeh 10%
- 20% : Disk yang mengandung ekstrak daun cengkeh 20%
- 50% : Disk yang mengandung ekstrak daun cengkeh 50%

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak daun cengkeh 10%, 20%, 50%, *vancomycin* (+), dan etanol 96% (-)

Cawan petri	Diameter zona hambat (mm)				
	(-)	(+)	10%	20%	50%
I	0	19	9	13	16
II	0	19	9	11	15
III	0	18	9	12	14
IV	0	19	10	13	12
V	0	18	10	12	15
VI	0	18	10	13	16
Rerata	0	18,5	9,5	12,33	14,66

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 1 dapat dinyatakan bahwa pemberian

ekstrak etanol daun cengkeh pada berbagai konsentrasi menunjukkan adanya perbedaan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri MRSA ATCC 3351. Tabel 1 menunjukkan rerata diameter zona hambat pada ekstrak 10% sebesar 9,5 mm, pada ekstrak 20% sebesar 12,33 mm, pada ekstrak 50% sebesar 14,66 mm, pada *Vancomycin* sebagai kontrol positif sebesar 18,5mm. Etanol 96% sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat. Pada konsentrasi ekstrak tertinggi (ekstrak 50%) menunjukkan rerata zona hambat terbesar dibandingkan dengan konsentrasi lainnya yakni sebesar 14,66 mm namun lebih rendah dari kontrol positif (*Vancomycin*).

DISKUSI

Hasil penelitian yang didapatkan peneliti menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA ATCC 3351. Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 1 terlihat bahwa ada kecenderungan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) diikuti peningkatan daya hambat sebagaimana yang disampaikan pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa rata-rata diameter zona hambat terbesar terdapat pada ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) dengan konsentrasi 50%. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan pada tahun 2018 oleh Ristiansyah dkk.⁷ terhadap *Salmonella typhi*, dalam penelitiannya pengujian dilakukan dengan metode disk diffusion.

Tabel 2. Klasifikasi respon zona hambat pertumbuhan bakteri.⁸

Diameter zona hambat	Respon zona hambat
>20 mm	Sangat kuat
11 – 19 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Secara teoritis kemampuan suatu zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri telah diklasifikasikan oleh David and Stout. Jika data hasil pengamatan pada Tabel 1 dibandingkan dengan kategori respon zona hambat menurut klasifikasi David and Stout dalam Ambarwati.⁸

diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 10% menunjukkan rerata zona hambat $9,50 \pm 0,54$ mm memiliki respon daya hambat lemah terhadap pertumbuhan MRSA ATCC 3351, pada ekstrak dengan konsentrasi 20% dan 50% menunjukkan rerata zona hambat $12,33 \pm 0,81$ mm dan $14,66 \pm 1,50$ mm yang berarti kedua konsentrasi ekstrak tersebut memiliki respon daya hambat yang kuat terhadap pertumbuhan MRSA ATCC 3351. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak konsentrasi 20% dan 50% memiliki kemampuan tertinggi dalam menghambat pertumbuhan MRSA ATCC 3351.

Selain daun, bagian dari tanaman cengkeh yang memiliki efek antibakteri adalah bunga cengkeh. Penelitian yang dilakukan pada tahun 2017 oleh Nurul dkk.⁹ ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan MRSA. Hasil uji fitokimia pada penelitian yang dilakukan tahun 2017 oleh Azizah dkk.¹⁰, bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa eugenol, tanin, saponin, flavonoid, fenol dan alkaloid. Pada penelitian tahun 2018 yang dilakukan oleh Taher dkk.¹¹ menyatakan bahwa bunga, tangkai, dan daun cengkeh memiliki kandungan senyawa yang sama namun dengan konsentrasi yang berbeda secara berturut-turut sebesar 36,43 %, 88,93 %, dan 91,18 %.

Tabel 3. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*)

Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil Uji Skrining Fitokimia
Saponin	Positif
Fenol	Positif
Terpenoid	Positif
Steroid	Negatif
Glikosida	Positif
Alkaloid	Negatif
Flavonoid	Positif
Tannin	Positif

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia pada Tabel 3, daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) yang digunakan pada penelitian ini mengandung senyawa metabolit sekunder berupa saponin, fenol, terpenoid, glikosida, flavonoid, tannin. Hasil uji skrining fitokimia ini berbeda dengan hasil penelitian pada tahun 2018 yang dilakukan oleh Nurbaety dkk.¹², pada

penelitian tersebut daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 75% dan memberikan hasil uji skrining fitokimia berupa terpenoid, flavonoid, alkaloid, fenolat, tanin, saponin dan glikosida. Perbedaan hasil juga didapatkan pada penelitian yang dilakukan oleh Taher dkk.¹¹ yang menggunakan metode maserasi menggunakan ekstrak methanol 70%. Hasil uji fitokimia pada penelitian tersebut daun cengkeh mengandung flavonoid, fenol, alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid.

Perbedaan hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun cengkeh *Syzygium aromaticum* L.) pada beberapa penelitian diatas dapat disebabkan karena perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Setiap pelarut memiliki polaritas yang berbeda, sehingga mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam hasil ekstraksi. Menurut Septiani dkk.¹³ pada tahun 2017, etanol 96% banyak digunakan sebagai pelarut pada ekstraksi senyawa bioaktif karena etanol lebih mudah untuk menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tumbuhan sehingga baik digunakan untuk mengekstrak senyawa antibakteri seperti tannin, saponin, terpenoid, fenol, dan flavonoid.

Perbedaan hasil uji skrining fitokimia pada beberapa penelitian juga dapat dipengaruhi oleh kondisi geografis dari tempat penanaman daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). Daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Banjar Gentuh, Desa Madenan, Singaraja. Sedangkan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) pada penelitian yang dilakukan oleh Nurbaety dkk.¹² diperoleh dari Desa Santong, Lombok Utara. Ketinggian tempat berkaitan dengan iklim, suhu tanaman, ketersediaan air, dan kecukupan cahaya dalam proses fotosintesis yang dapat mengganggu fungsi fisiologis dan siklus hidup tumbuhan. Faktor ini yang mungkin memengaruhi senyawa-senyawa yang terdapat pada daun cengkeh.¹⁴

Efek antibakteri pada ekstrak etanol 96% daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap pertumbuhan MRSA ATCC 3351, diduga karena terdapat senyawa metabolit sekunder di dalamnya, seperti yang terlihat pada Table 3. Hal ini sejalan dengan penelitian pada tahun 2017 yang dilakukan oleh Lambiju dkk.¹⁴ yang menunjukkan adanya kandungan

tanin, flavonoid, fenol, dan saponin, pada ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.).

Aktivitas antibakteri tanin berhubungan dengan kemampuannya menginaktifkan adhesi sel mikroba dan enzim, serta mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga memiliki 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.¹⁰

Sifat antibakteri saponin diduga karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membrane, maka transport zat ke dalam dan ke luar sel akan tidak terkontrol. Zat – zat seperti ion organik enzim, nutrisi, dan asam amino yang ada di dalam sel dapat keluar dari sel itu sendiri dan abila enzim-enzim tersebut dan zat-zat seperti nutrisi dan air keluar dari sel secara bersamaan, maka dapat menyebabkan terhambatnya metabolisme yang akan mengakibatkan penurunan ATP yang diperlukan untuk perkembangbiakan dan pertumbuhan sel yang selanjutnya akan menyebabkan kematian sel.¹⁵

Aktivitas flavonoid diduga disebabkan oleh aktivitas gugus alkohol senyawa flavonoid yang mengikat peptidoglikan di dinding sel, selain itu gugus alkohol flavonoid juga mampu merusak membran sel bakteri melalui pengikatan pada lipopolisakarida.¹⁶

Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder dengan mekanisme kerja sebagai antibakteri yang beraksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, mengganggu masuknya ion serta terpenoid mampu berikatan dengan karbohidrat dan lemak yang akan menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri terganggu, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin, sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan terhambat atau mati.¹⁰

Fenol memiliki banyak peran biologi salah satunya adalah sebagai antibakteri. Fenol dapat merusak dinding sel bakteri menjadi lisis dengan mendenaturasi protein pada bakteri sehingga sel bakteri akan mengalami kerusakan karena terjadinya penurunan permeabilitas dinding sel bakteri yang menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan sel bakteri akan mengalami kematian. Senyawa fenolat dalam

daun cengkeh, yaitu eugenol minyak daun cengkeh yang mengandung eugenol.¹⁷

Eugenol merupakan senyawa hidrofobik yang mudah melewati serta merusak dinding sel bakteri gram negatif yang memiliki konsentrasi lipid yang tinggi. Eugenol mengurangi viabilitas seluler dengan menginduksi pelepasan substansi sel. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kematian sel disebabkan oleh lisis seluler. Eugenol juga merusak *envelope* sel bakteri. Eugenol aktif menyebabkan lisis dan kebocoran isi sel. Selain itu, eugenol dapat menghambat produksi enzim beta laktamase dan aktivitas urease serta melemahkan pergerakan bakteri.¹⁸

Dalam penelitian ini masih terdapat kekurangan, yaitu belum diketahui secara pasti senyawa mana yang memiliki efektivitas tertinggi dalam menghambat pertumbuhan MRSA. Namun adanya efek aktivitas terhadap MRSA perlu diteliti lebih lanjut.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki efek menghambat pertumbuhan MRSA secara *in vitro* dan terdapat perbedaan zona hambat pada masing – masing konsentrasi.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap MRSA dan dilakukan isolasi senyawa aktif pada daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) yang memiliki potensi paling tinggi sebagai antibakteri. Serta perlu dilakukan pengujian terhadap bakteri patogen lainnya terutama bakteri yang resisten terhadap antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Harris, L.G. dkk. *An introduction to Staphylococcus aureus, and techniques for identifying and quantifying S. aureus adhesins in relation to adhesion to biomaterials: Review. European Cells and Materials*. 2002; 4:39–60.
2. Triana D. Frekuensi β -Lactamase Hasil Staphylococcus aureus Secara Iodometri Di Laboratorium Mikrobiologi FK Universitas Andalas, Tugas Akhir, Universitas Bengkulu. 2014
3. Centers for Disease Control and Prevention. *Biggest Threats Antibiotic/Antimicrobial Resistance*. 2013
4. Yuliani R, Prasetyo M, Liberitera S. *Skrining Akktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak Tanaman Terhadap MRSA*. Tugas Akhir. University Research Colloquium. 2017
5. Rodvold, K.A. & Mcconeghy, K.W. *Methicillin-resistant staphylococcus aureus therapy: Past, present, and future. Clinical Infectious Diseases*. 2014; 58:20–27.
6. Paliling A, Posangi J, Anindita PS. *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Cengkeh Terhadap Bakteri Porphyromonas gingivalis*. Tugas Akhir. Bagian Farmakolgi FK. Universitas Sam Ratulangi. 2016
7. Ristiansyah DU, Yenita, Melviana, Annisa. *Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cengkeh (Syzygium aromaticum) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella thypi secara in vitro*. Ibnu Sina Biomedika. 2018; 2:14-16.
8. Ambarwati. *Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (Azadirachta indica) untuk menghambat Pertumbuhan Salmonella thyposa dan Staphylococcus aureus*. Biodiversitas. 2007; 8:23-27.
9. Nurul R, Hijra NS, Yulia R. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (Syzygium aromaticum) Terhadap Pertumbuhan Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Tugas Akhir. Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. 2017.
10. Azizah A, Suswati I, Agustin SM. *Efek anti mikroba ekstrak daun cengkeh (syzygium aromaticum) terhadap methicillin-resistant staphylococcus aureus (mrsa) secara in vitro*. Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang. 2017;13(10):32.
11. Taher DM, Solihin DD, Cahyaningsih U, Sugita P. *Ekstrak Metanol Cengkeh (Syzygium aromaticum) Varietas Tuni Buru Selatan Sebagai Antimalaria*. Acta Veterinaria Indonesiana. 2018;6(2): 38-47.

12. Nurbaety B, Safwan, Haeroni AN. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dengan Menggunakan Metode Sumuran. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*.2018.
13. Septiani, Nurcahya, E. D., Wijayanti, I. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea Rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 2017;13(1): 1-6.
14. Lambiju EM, Wowor PM, Leman MA. Uji daya hambat ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. *Jurnal e-GiGi*. 2017;5(1):81-82.
15. Suhartati, R., Roziqin, D. A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Pyogenes*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 2017;17(2): 513-518.
16. Jawetz, Melnick, & Adelberg's. *Medical Microbiology Twenty-Seventh Edition*. McGraw-Hill Companies. US. 2013.
17. Bowsher C, Steer M, Tobin A. *Plant Biochemistry*. New York: Taylor & Francis Group. 2008
18. El-Baky RMA, Hashem ZS. Eugenol and linalool: comparison of their antibacterial and antifungal activities. *African Journal of Microbiology Research*. 2016: 10(44):1860-1872.