

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN SKEMA PENELITIAN DASAR**



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
CENGKEH (*SYZYGIVM AROMATICUM L.*) TERHADAP BAKTERI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

Rima Erviana, Apt. , S.Farm., M.Sc., Ph.D. (0506067803)
Sabtanti Harimurti, apt. RR., S.Si., M.Sc., Ph.D. (0523027304)
Fathirrokhaini Doni Wulandari (20210350022)
apt. Maryati, Ph.D

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA

Dibiayai Oleh Direktorat Riset dan Pengabdian (DRP)
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
Tahun Anggaran 2024/2025



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA

Kampus terpadu: Jl. Brawijaya, Geblagan, Tamantirto, Bantul, Daerah
Istimewa Yogyakarta 55183

Telp. (0274) 387656 (hunting) Fax. (0274) 387646

PROTEKSI ISI LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian.

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Informasi Data Usulan Penelitian

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

B. SKEMA, BIDANG, TEMA, DAN TOPIK PENELITIAN

Skema Penelitian	Bidang Fokus Penelitian	Tema Penelitian	Topik Penelitian
Penelitian Dasar	Kesehatan - Obat	Teknologi kemandirian bahan baku obat	Pengembangan fitofarmaka berbasis sumber daya lokal.

C. KOLABORASI DAN RUMPUN ILMU PENELITIAN

Jenis Kolaborasi Penelitian	Rumpun Ilmu 1	Rumpun Ilmu 2	Rumpun Ilmu 3
Kolaboratif Dalam Negeri	ILMU KESEHATAN	ILMU FARMASI	Farmasi Umum dan Apoteker

D. WAKTU PELAKSANAAN

Tahun Usulan	Tahun Pelaksanaan	Lama Penelitian
2024	2025	1

E. ANCOR RESEARCH

Anchor Research	Topik Anchor
Sabtanti Harimurti, apt. RR., S.Si., M.Sc., Ph.D.	Pengembangan Bahan Baku Obat Alam dan Halal

F. MATA KULIAH

Penelitian	Mata kuliah
Pemenuhan IKS	FAB1514 -- Farmakoterapi Cerna, Nafas dan Infeksi (S1 Farmasi)

G. SUSTAINABLE DEVELOPMENT GOALS

Tujuan	Target	Indikator
1. Menghapus Kemiskinan	Target 1.4.	Pada tahun 2030, menjamin bahwa semua laki-laki dan perempuan, khususnya masyarakat miskin dan rentan, memiliki hak yang sama terhadap sumber daya ekonomi, serta akses terhadap pelayanan dasar, kepemilikan dan kontrol atas tanah dan bentuk kepemilikan lain, warisan, sumber daya alam, teknologi baru, dan jasa keuangan yang tepat, termasuk keuangan mikro
3. Kesehatan yang Baik dan Kesejahteraan	Target 3.3.	Mengakhiri epidemi AIDS, tuberkulosis, malaria, dan penyakit tropis yang terabaikan, dan memerangi hepatitis, penyakit bersumber air, serta penyakit menular lainnya

Tujuan	Target	Indikator
9. Infrastruktur, Industri dan Inovasi	Target 9.4.	Pada tahun 2030, meningkatkan infrastruktur dan retrofit industri agar dapat berkelanjutan, dengan peningkatan efisiensi penggunaan sumberdaya dan adopsi yang lebih baik dari teknologi dan proses industri bersih dan ramah lingkungan, yang dilaksanakan semua negara sesuai kemampuan masing- masing.

H. DASAR AL QUR'AN

Dasar Al Qur'an	Q.S An-Nahl ayat 11
Ayat Al Qur'an	يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾
Terjemahan Al Qur'an	“Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untukmu tumbuh-tumbuhan, zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah SWT) bagi orang yang berpikir”
Kata Kunci Penelitian	Tanaman, daun cengkeh, obat
Uraian Integrasi Keilmuan	Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang dapat bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat di manfaatkan sebagai obat alami. Beragam tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat merupakan anugerah dari Allah SWT yang harus dimanfaatkan.

2. IDENTITAS PENELITIAN

Nama	Peran	Tugas
Rima Erviana, Apt. , S.Farm., M.Sc., Ph.D.	Ketua Pengusul	
Sabtanti Harimurti, apt. RR., S.Si., M.Sc., Ph.D.	Pakar Bidang	Membantu publikasi ilmiah
Fathirrokhaini Doni Wulandari	Mahasiswa Bimbingan	Menyiapkan alat bahan dan melaksanakan uji antibakteri

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra	Kepakaran	Jenis Mitra	Jenis Instansi	Alamat	Email	No Wa

4. KOLABORASI PENELITIAN

Kolaborator 1	
Nama	apt. Maryati, Ph.D
NiK/NIDN/NIK/ID/nomor Paspur	0
Instansi	
Kepakaran	Farmakognosi
Dana In-cash	
Dana In-kind	Rp. 5,000,000
Keterangan In-kind	Sharing biaya untuk pembuatan artikel ilmiah

Email	mar281@ums.ac.id
No. Hp	089526064294

5. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

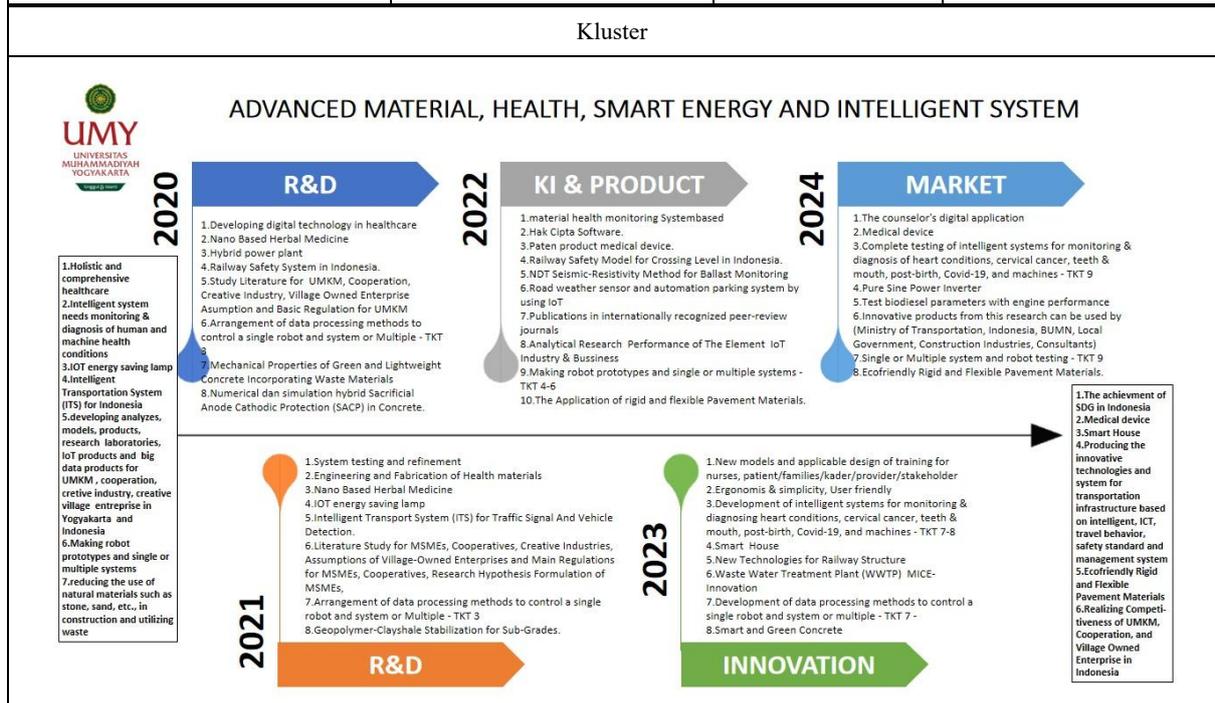
Tahun	Jenis Luaran
1	Proceeding terindeks SCOPUS.

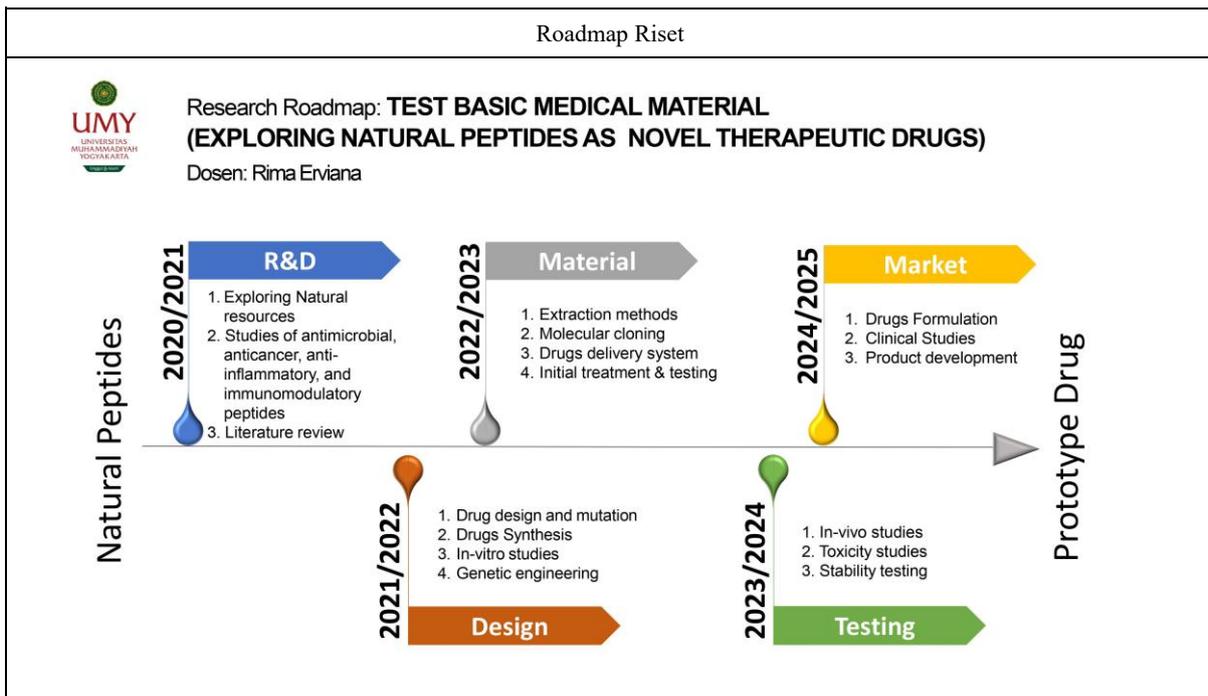
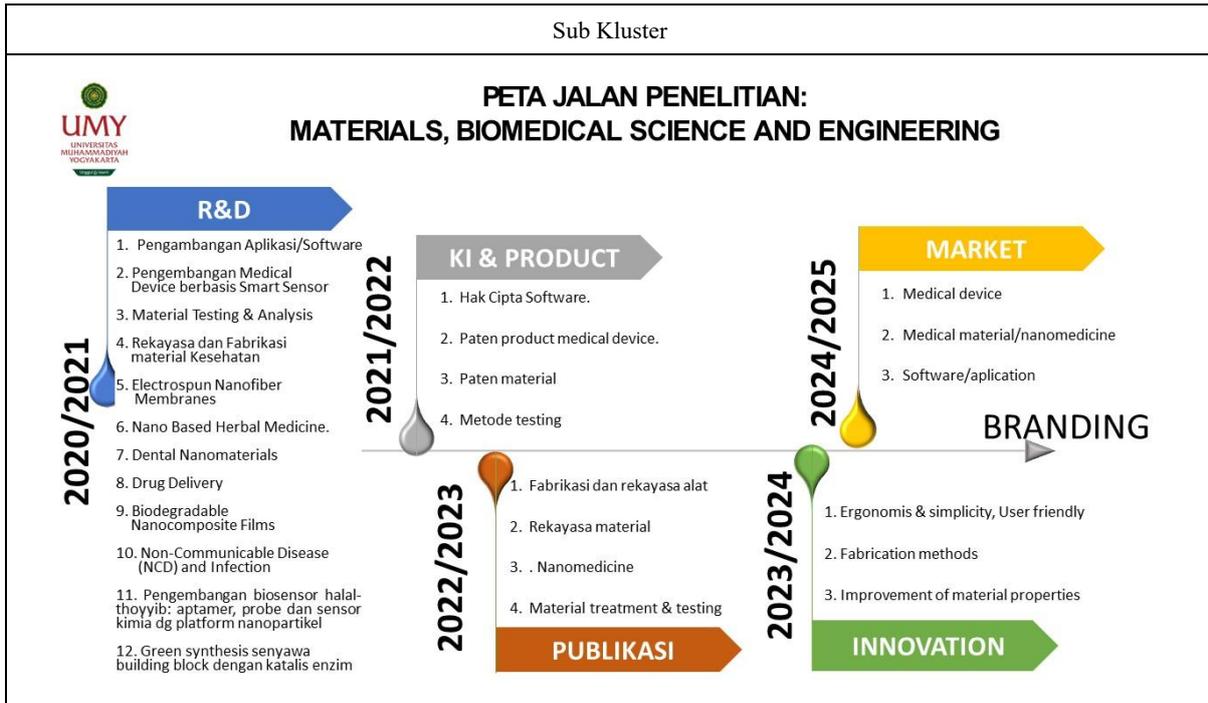
Luaran Tambahan

Tahun	Jenis Luaran
-------	--------------

6. KLUSTER

Kluster	Sub Kluster	Roadmap Riset	Mata kuliah
ADVANCED MATERIAL, HEALTH, SMART ENERGY AND INTELLIGENT SYSTEM	MATERIALS, BIOMEDICAL SCIENCE AND ENGINEERING	TEST BASIC MEDICAL MATERIAL	FAB1514 -- Farmakoterapi Cerna, Nafas dan Infeksi





7. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat.

Total Keseluruhan RAB Rp. 15,000,000

Total Dana Cash Rp. 0

Total Dana Inkind Rp. 5,000,000

Tahun 1 Total Rp. 15,000,000

Jenis Pembelian	Komponen	Item	Satuan	Vol.	Harga Satuan	Total
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	Bakteri	Unit	2	Rp. 500,000	Rp. 1,000,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	Media pertumbuhan bakteri	Unit	2	Rp. 1,000,000	Rp. 2,000,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	daun cengkeh	Unit	1	Rp. 500,000	Rp. 500,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	Ekstraksi Daun cengkeh	Unit	1	Rp. 1,000,000	Rp. 1,000,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	Larutan standar eugenol	Unit	1	Rp. 3,000,000	Rp. 3,000,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	Densitometri analisis	Unit	5	Rp. 1,000,000	Rp. 5,000,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	Microplate 96 well	Unit	20	Rp. 70,000	Rp. 1,400,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	Parafin seal	Unit	1	Rp. 500,000	Rp. 500,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	paper disk	Unit	1	Rp. 400,000	Rp. 400,000
BAHAN	Bahan (Habis Pakai)	bahan sterilisasi	Unit	1	Rp. 200,000	Rp. 200,000

8. LEMBAR PENGESAHAN

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR PENELITIAN SKEMA:

Judul : UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN CENGKEH (Syzygium aromaticum L.) TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus

Peneliti/Pelaksana : Rima Erviana, Apt. , S.Farm., M.Sc., Ph.D.

NIDN : 0506067803

Jabatan Fungsional : Asisten Ahli

Program Studi/Fakultas : Farmasi

Nomor HP : 081233669630

Alamat surel (e-mail) : rima@umy.ac.id

Anggota

Nama : Sabtanti Harimurti, apt. RR., S.Si., M.Sc., Ph.D.

NIDN : 0523027304

Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

Program Studi/Fakultas : Farmasi

Nama : Fathirrokhaini Doni Wulandari

NIM : 20210350022

Prodi : S1 Farmasi

Nama : apt. Maryati, Ph.D
NIK : 0
Institusi :

Biaya : Rp. 15,000,000
Biaya Dana Cash : Rp. 0
Biaya Dana Inkind : Rp. 5,000,000

Yogyakarta, 28 Juli 2025

Mengetahui,

Direktur Direktorat Riset dan Pengabdian,



apt. RR. Sabtanti Harimurti, M.Sc. Ph.D.

NIK. 19730223201310 173 127

9. RINGKASAN

Penggunaan antibiotik yang berulang dan tidak terkontrol dalam pengobatan infeksi bakteri telah menyebabkan peningkatan resistensi antimikroba, sehingga dibutuhkan alternatif terapi baru yang berasal dari bahan alam, salah satunya adalah daun cengkeh. Daun cengkeh telah dikenal memiliki kandungan senyawa aktif seperti eugenol, flavonoid, tanin, dan saponin, yang diduga berkontribusi terhadap aktivitas antibakterinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar eugenol dalam daun cengkeh, aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cengkeh terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 dan *E.coli* ATCC 25922, dan aktivitas penghambatan biofilm bakteri *S.aureus* ATCC 6538. Metode yang digunakan untuk uji kadar eugenol adalah KLT-Densitometri, uji aktivitas antibakteri adalah difusi cakram disk dengan variasi konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, dan 2,5% dan metode aktivitas penghambatan biofilm menggunakan metode *microtiter broth dilution* dengan variasi konsentrasi yang sama seperti uji aktivitas antibakteri. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya kandungan eugenol di dalam daun cengkeh, aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 dengan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 40%, 20%, 10% dengan rata-rata sebesar 16,26 mm; 12,96 mm ; 10,79 mm kategori kuat dan sedang. Pada *E.coli* ATCC 25922 terbentuk zona hambat pada konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, dan 2,5% dengan rata-rata sebesar 14,73 mm; 12,47 mm; 10,32 mm; 9,24 mm; 7,73 mm kategori kuat dan sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Terdapat aktivitas penghambatan biofilm terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 pada konsentrasi terbesar 40% menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan dan biofilm sebesar 43,67%. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun cengkeh memiliki kandungan senyawa eugenol, memiliki kemampuan sebagai antibakteri *S.aureus* ATCC 6538 dan *E.coli* ATCC 25922, dan penghambatan biofilm bakteri *S.aureus* ATCC 6538.

10. KEYWORDS

Antibakteri, ekstrak etanol daun cengkeh, eugenol, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922

11. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN

1. SKRINING FITOKIMIA

Skrining fitokimia merupakan salah satu metode skrining kualitatif untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman dengan menggunakan pereaksi untuk melihat adanya perubahan yang menandakan adanya senyawa. Analisis yang akan dilakukan yaitu mengecek adanya senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, fenolik, terpenoid. Hasil skrining fitokimia bisa dilihat di tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji	Larutan Pereaksi	Warna	Ket.
Flavonoid	HCl pekat + Serbuk magnesium (Mg)	Merah	+
Saponin	Aquades + HCl 1N	Berbusa	+
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	Endapan putih atau kuning	+
	HCl 2N + Dragendroff	Endapan jingga sampai merah coklat	+
Tanin	FeCl ₃	Biru tua atau hijau kehitaman	+
Fenolik	Etanol 96% + FeCl ₃ 1%	Hijau, biru, atau merah	+
Terpenoid	CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat	Merah atau jingga	+

Keterangan : (+) : adanya senyawa aktif

Pada pengujian flavonoid pada EEDC menggunakan larutan asam berupa HCl pekat. Hasilnya menyatakan EEDC mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah. Warna merah yang terbentuk disebabkan oleh terjadinya reduksi dengan Mg dan HCl pekat. HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan digantikan oleh H⁺ dari asam dikarenakan sifat elektrofiliknya (Ikalinus *et al.*, 2015). Sesuai dengan penelitian Arum Nata, *et al* (2024) pada pengujian ini dihasilkan ekstrak mengandung flavonoid dengan penambahan larutan HCl pekat dan Mg. Flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein, sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan terjadi pelepasan senyawa intraseluler (Tilarso *et al.*, 2021).

Kemudian pengujian saponin pada EEDC digunakan larutan aquades lalu dipanaskan dan ditambahkan HCl 1N, yang kemudian digojog selama ±10 detik dan akan membentuk busa stabil >10 menit setinggi 1-10 cm. Terjadinya pembentukan busa dikarenakan senyawa yang memiliki gugus polar maupun non-polar bersifat aktif permukaan sehingga saat digojog dengan aquades atau air, saponin akan membentuk misel. Dalam struktur misel, gugus polar menghadap ke luar dan gugus non-polar menghadap ke dalam, keadaan ini yang akan tampak seperti busa (Muniah *et al.*, 2024). Setelah penambahan aquades kemudian dipanaskan, tujuan pemanasan yaitu untuk memperluas kelarutan saponin dalam aquades. Saponin punya dua gugus yang berbeda sifatnya yaitu hidrofilik dan hidrofobik yaitu aglikon (sapogenin). HCl ditambahkan pada uji saponin akan mengakibatkan peningkatan kepolaran saponin sehingga terjadi perubahan letak gugus penyusunnya. Saponin memiliki glikosil berfungsi untuk gugus polar dan terpenoid atau steroid berfungsi sebagai gugus non-polar (Armayanti *et al.*, 2023). Sesuai dengan pengujian (Suhendar & Sogandi, 2019b), pada pengujian ini

ditambahkan aquades lalu dipanaskan dan ditambahkan HCl dihasilkan busa stabil yang menandakan adanya saponin. Saponin memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dalam sel bakteri (Rini *et al.*, 2017).

Kemudian pada pengujian alkaloid pada EEDC menggunakan pereaksi HCl 2N, Mayer, dan Dragendorff. Sebelum ditetesi pereaksi mayer dan dragendorff, EEDC ditambahkan HCl. Fungsi penambahan HCl untuk menarik kandungan alkaloid dalam EEDC, mengingat bahwa alkaloid bersifat basa dan saat ditambahkan HCl yang bersifat asam akan terbentuk garam, sehingga alkaloid terpisah dengan senyawa-senyawa lain yang berasal dari sel tumbuhan yang akan ikut terekstrak dengan cara mendistribusikannya ke fase asam (Oktapiya *et al.*, 2022). Hasil penetesan dengan pereaksi mayer muncul endapan putih dan pada penetesan dengan pereaksi dragendorff terbentuk endapan jingga kemerahan. Hasil positif pada pereaksi mayer disebabkan senyawa alkaloid bereaksi dengan ion tetraiodomercurat (II) kemudian membentuk senyawa kompleks yang mengendap. Kemudian hasil positif pada pereaksi dragendorff disebabkan karena endapan yang terbentuk terdiri dari kalium-alkaloid, di mana nitrogen dalam uji alkaloid berinteraksi dengan pereaksi dragendorff untuk menghasilkan ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang termasuk dalam kategori ion logam. Hal ini dapat terjadi karena ion merkuri adalah ion logam berat yang dapat mengendapkan senyawa alkaloid yang memiliki sifat basa (Armayanti *et al.*, 2023). Sesuai dengan pengujian (Suhendar & Sogandi, 2019b), pada pengujian ini EEDC menunjukkan hasil positif alkaloid. Alkaloid memiliki kemampuan antibakteri dengan mengganggu elemen yang menyusun peptidoglikan dalam sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk sempurna dan menyebabkan kematian sel (Nurhasanah & Gultom, 2020).

Pengujian tanin pada EEDC menggunakan pereaksi $FeCl_3$ yang menunjukkan hasil positif tanin dengan timbulnya warna hijau kehitaman. Fungsi penambahan $FeCl_3$ yaitu untuk menghidrolisis golongan tanin yang akan menghasilkan warna hijau kehitaman di tanin terkondensasi. Hasil warna hijau kehitaman disebabkan karena tanin adalah senyawa polar yang ketika ditambahkan $FeCl_3$ akan terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru tua yang menunjukkan adanya tanin (Oktapiya *et al.*, 2022). Hal ini sesuai dengan penelitian (Arum *et al.*, 2024), dihasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin. Tanin memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan mengganggu permeabilitas sel bakteri dan dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel bakteri (Hidayatullah & Mourisa, 2023).

Kemudian pada pengujian fenolik menggunakan penambahan etanol 96% dan pereaksi $FeCl_3$ 1%, hasil positif fenolik dengan timbulnya warna hijau, biru, atau merah. Fungsi penambahan pereaksi $FeCl_3$ yaitu untuk membentuk senyawa kompleks dan saat terbentuk senyawa kompleks akan terjadi perubahan warna yang bisa diidentifikasi. Senyawa fenol akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Wardhani & Supartono, 2015). Hasil perubahan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak mengandung tannin katekol (senyawa derivat fenol) (Bayani, 2016). Hasil ini sesuai dengan penelitian (Suhendar & Sogandi, 2019b), dihasilkan warna hijau yang menunjukkan positif fenolik. Fenolik memiliki mekanisme antibakteri dengan mendenaturasi protein membran sel melalui ikatan hidrogen yang terbentuk, dengan merusak struktur tersier dari protein yang menyebabkan kerusakan protein dan menyebabkan protein tidak dapat berfungsi. Fungsi protein ini untuk metabolisme sel bakteri (Hidayatullah & Mourisa, 2023).

Pada pengujian terpenoid EEDC diuji menggunakan metode *Liebermann-Bucchard* menggunakan penambahan pereaksi asam asetat glasial dan pereaksi H_2SO_4 pekat, menunjukkan perubahan warna menjadi merah atau jingga. Fungsi penambahan asam asetat glasial adalah memisahkan gugus steroid-terpenoid dengan gugus-gugus lain. Kemudian ditambahkan asam sulfat pekat (H_2SO_4 pekat) dengan tujuan untuk

memisahkan ikatan gula pada senyawa. Apabila ikatan gula terputus maka hasil positif steroid-terpenoid bebas dalam sampel akan ditandai dengan munculnya cincin berwarna merah. Pengujian ini didasarkan pada potensi senyawa terpenoid dalam menghasilkan warna saat ditambahkan H_2SO_4 pekat dan asam asetat glasial yang memunculkan warna jingga (Puspa *et al.*, 2017). Hasil dari analisis fitokimia ini menunjukkan EEDC mengandung senyawa terpenoid yang ditandai dengan munculnya warna jingga. Hal ini sesuai dengan pengujian (Arum *et al.*, 2024), yang positif adanya terpenoid. Terpenoid memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan menyebabkan pengurangan kemampuan permeabilitas membran sel bakteri yang diakibatkan oleh senyawa terpenoid yang berinteraksi dengan porin (protein yang melintasi membran) pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat, sehingga menyebabkan kerusakan porin yang berfungsi sebagai saluran keluar masuk senyawa dan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri (Hidayatullah & Mourisa, 2023).

2. UJI ANTIBAKTERI

Penelitian uji aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi kertas cakram (*disk diffusion*). Metode difusi kertas cakram dalam pengujian antibakteri menunjukkan tingkat kecocokan berkisar antara 82.0%-100% yang bergantung pada tipe antibiotik yang diterapkan (Rahman *et al.*, 2022). Dapat dimanfaatkan untuk senyawa non-polar, cepat, praktis, dan mudah (Mengko *et al.*, 2022). Dapat digunakan untuk mengamati aktivitas antibakteri pada konsentrasi tertentu di berbagai jenis bakteri (Ramadhani & Novema, 2022).

Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan bakteri *S.aureus* (*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538 dan *E.coli* (*Escherichia coli*) ATCC 25922 kemudian dilakukan 3 kali replikasi. Sampel yang digunakan adalah EEDC dengan variasi konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, dan 2,5%. Dibuat variasi konsentrasi dikarenakan untuk mengamati perbedaan kemampuan penghambatan yang disebabkan oleh variasi konsentrasi. Uji dilakukan 3 kali replikasi dikarenakan untuk memperoleh hasil yang lebih tepat (Wardaniati & Gusmawarni, 2021). Kemudian kontrol positif yang digunakan adalah ampisillin 1 mg/ml dan untuk kontrol negatif yaitu DMSO 1%. Ampisillin digunakan dan dipilih sebagai kontrol positif dikarenakan untuk menguji apakah pertumbuhan bakteri yang dipakai dapat dihambat atau melihat apakah bakteri tersebut memiliki sifat resisten terhadap senyawa antibakteri. Ampisillin termasuk dalam kelompok penisillin yang memiliki rentang efek yang luas, sehingga dipilih sebagai kontrol positif karena kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Cara kerja Ampisillin sebagai antibiotik adalah dengan menghalangi sintesis dinding sel bakteri. Gangguan yang terjadi pada sintesis dinding sel ini menyebabkan bakteri gagal dalam mengatasi tekanan osmotik yang ada di dalam dan luar sel, yang akhirnya menyebabkan sel bakteri tersebut pecah dan menyebabkan bakteri mati (Rakasiwi *et al.*, 2023). DMSO 1% digunakan sebagai kontrol negatif dikarenakan tidak memberikan aktivitas hambatan pada bakteri yang sedang diuji (Rizki *et al.*, 2021). Penggunaan kontrol positif untuk kontrol dari agen uji, dengan membandingkan luas area hambatan yang terbentuk, lalu untuk kontrol negatif digunakan untuk menunjukkan apakah EEDC dipengaruhi oleh pelarutnya atau tidak (Mengko *et al.*, 2022b). Data yang akan didapatkan adalah ukuran diameter zona hambat dengan melihat area bening yang berada di sekitar kertas cakram pada setiap tingkat konsentrasi.

Tabel 2. Hasil pengukuran Zona Hambat Antibakteri *S.aureus* ATCC 6538

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) ± SD	Kategori Zona Hambat
K+	32,06 ± 0,04*	Sangat kuat
K-	0	Tidak ada
Konsentrasi EEDC 2,5% (5)	0	Tidak ada
Konsentrasi EEDC 5% (4)	0	Tidak ada
Konsentrasi EEDC 10% (3)	10,79 ± 0,36*	Sedang
Konsentrasi EEDC 20% (2)	12,96 ± 1,63*	Kuat
Konsentrasi EEDC 40% (1)	16,26 ± 0,04*	Kuat

Keterangan : K+ (Kontrol Positif : sampel yang berisikan Ampisillin 1mg/ml; K- (Kontrol Negatif : sampel yang berisikan DMSO 1%); Seri kadar EEDC secara berturut-turut 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40%; SD : *standard deviation* atau simpangan baku; (*) : merupakan sig ≤ 0,05 menandakan adanya perbedaan signifikan.

Hasil uji antibakteri EEDC terhadap *S.aureus* ATCC 6538 pada Gambar 8 menunjukkan adanya zona hambatan atau bening disekitar kertas cakram. Hasil pengukuran uji antibakteri pada penelitian ini dapat dilihat di Tabel 6. Pengujian aktivitas antibakteri EEDC menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 6538 dengan terbentuk zona hambat pada konsentrasi 10% sebesar 10,79 mm, konsentrasi 20% sebesar 12,96 mm, konsentrasi 40% sebesar 16,26 mm. Berdasarkan dalam kategori zona hambat bakteri, konsentrasi 10%, 20%, dan 40% memiliki kemampuan zona hambat yang sedang dan kuat, hal ini menandakan semakin besar konsentrasi EEDC maka semakin luas pula zona hambatan yang terbentuk.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Huda *et al.*, 2018), semakin naik konsentrasi ekstrak maka akan semakin besar kandungan antibakteri dalam ekstrak cengkeh, sehingga akan semakin tinggi aktifasi antibakteri dalam menghambat perkembangan atau pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram menandakan konsentrasi tersebut memiliki kandungan antibakteri, hal ini dikarenakan daun cengkeh memiliki kandungan eugenol, triterpenoid, dan fenol yang bekerja sebagai antibakteri.

Eugenol adalah komponen dominan yang berada dalam cengkeh, dengan proporsi antara 78%-95%. Eugenol merupakan kelompok senyawa fenol yang bersifat asam lemah. Senyawa eugenol merupakan senyawa antibakteri yang dapat menghalangi perkembangan bakteri patogen, baik yang termasuk dalam kategori Gram positif maupun Gram negatif. Eugenol sebagai asam lemah, senyawa fenolik dapat mengalami ionisasi dengan melepaskan ion H⁺ dan meninggalkan bagian yang bermuatan negatif. Keadaan bermuatan negatif ini akan ditolak oleh dinding sel bakteri Gram positif yang juga memiliki muatan negatif di dalamnya, sehingga fenol dapat berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen Gram positif (Huda *et al.*, 2018). Pada Gram negatif, eugenol merusak membran sel sitoplasma. Sebagai senyawa hidrofobik, eugenol dengan mudah dapat menembus membran sel ke dalam liposakarida dan memasukin bagian dalam sitoplasma. Setelah berada di dalam sel, eugenol dapat mengakibatkan perubahan pada struktur sel, yang berujung pada kebocoran elemen intraseluler (Ulanowska & Olas, 2021). Kemudian triterpenoid berfungsi sebagai antibakteri, bekerja dengan cara berinteraksi dengan porin (protein transmembran), yaitu protein yang berada di membran luar dinding sel bakteri. Interaksi ini mengakibatkan pembentukan ikatan polimer yang kokoh, yang pada

gilirannya merusak porin. Sel-sel bakteri yang terpengaruh akan mengalami kekurangan nutrisi, yang menyebabkan pertumbuhannya terhenti atau mati. Kemudian untuk fenol sebagai antibakteri dengan mengubah bentuk protein dalam sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein menyebabkan kerusakan pada struktur protein (Lambiju *et al.*, 2017).

Tabel 3. Hasil pengukuran Zona Hambat Antibakteri *E.coli* ATCC 25922

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) ± SD	Kategori Zona Hambat
K+	20,47 ± 0,02*	Kuat
K-	0	Tidak ada
Konsentrasi EEDC 2,5% (5)	7,73 ± 0,80*	Sedang
Konsentrasi EEDC 5%(4)	9,24 ± 1,29*	Sedang
Konsentrasi EEDC 10% (3)	10,32 ± 2,01*	Sedang
Konsentrasi EEDC 20% (2)	12,47 ± 2,13*	Kuat
Konsentrasi EEDC 40% (1)	14,73 ± 0,59*	Kuat

Keterangan : K+ (Kontrol Positif : sampel yang berisikan Ampisillin 1mg/ml; K- (Kontrol Negatif : sampel yang berisikan DMSO 1%); Seri kadar EEDC secara berturut-turut 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40%; SD : *standard deviation* atau simpangan baku; (*) : merupakan sig ≤ 0,05 menandakan adanya perbedaan signifikan.

Hasil dari pengujian antibakteri EEDC terhadap bakteri *E.coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada Gambar 9 menunjukkan adanya area bening atau terbentuknya zona hambatan yang muncul disekitar kertas cakram. Data hasil pengukuran uji antibakteri *E.coli* ATCC 25922 pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 9. Uji aktivitas antibakteri EEDC menunjukkan adanya kemampuan aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* ATCC 25922 dengan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 2,5% sebesar 7,73 mm, konsentrasi 5% sebesar 9,24 mm, konsentrasi 10% sebesar 10,32 mm, konsentrasi 20% sebesar 12,47, dan konsentrasi 40% sebesar 14,73 mm. Berdasarkan dalam kategori zona hambat bakteri, konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% memiliki kemampuan zona hambat yang sedang hingga kuat, hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi EEDC, maka semakin luas zona hambatan yang terbentuk.

Pada pengujian aktivitas antibakteri EEDC *E.coli* ATCC 25922 dapat menunjukkan aktivitas hambatan di semua konsentrasi yaitu 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% dibandingkan pada bakteri *S.aureus* ATCC 6538 yang hanya dapat menghambat di konsentrasi 10%, 20%, dan 40%. Berdasarkan penelitian (Dima & Astuty, 2016), yang meneliti efektivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*, menunjukkan hasil diameter zona hambat *E.coli* lebih besar dibandingkan diameter zona hambat *S.aureus*. Hal ini dikarenakan bakteri *E.coli* termasuk kategori bakteri Gram negatif, sementara *S.aureus* merupakan bakteri Gram positif. Oleh karena itu, kedua bakteri tersebut memiliki struktur dinding sel yang berbeda. Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tipis, yang membuatnya lebih rentan terhadap kerusakan. Sebaliknya, bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dan kokoh, sehingga lebih tahan pengaruh agen antibakteri atau penggunaan antibiotik (Ramadhani & Novema, 2022).

3. UJI PENGHAMBATAN BIOFILM

Pengujian penghambatan biofilm dilaksanakan menggunakan metode *Microtiter broth dilution* yang artinya menggunakan media yang cair, suspensi bakteri, dan senyawa uji yang dibuat pengenceran bertingkat yang menggunakan *microplate 96 wells*, kemudian diamati nilai konsentrasi bakteri atau kerentanan bakteri (*Optical Density* atau OD) yang ada di dalam tiap *wells* atau sumuran yang dilihat menggunakan instrument *Microplate reader* yang kemudian akan diaplikasikan dalam nilai absorbansi. Hasil nilai absorbansi dapat dilihat di Tabel 4.

Uji penghambatan biofilm menggunakan suspensi bakteri *S.aureus* ATCC 6538, karena merupakan salah satu jenis bakteri yang mampu memicu berbagai penyakit dan memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm sehingga memiliki kemampuan untuk melindungi diri dari antibiotik (Muhammad & Agustiningtyas, 2021). Setelah melalui tahap inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°, yang merupakan waktu optimal pembentukan biofilm (Singh *et al.*, 2017). Selanjutnya, media yang ada di dalam *wells* dibuang dan dicuci sebanyak 3 kali, dengan tujuan untuk menghilangkan sel-sel planktonic serta komponen media yang tidak melekat. *Wells* diwarnai dengan kristal violet 0,1%, tujuan menggunakan pewarna kristal violet karena merupakan pewarna dasar yang dapat berinteraksi dengan molekul bermuatan negatif serta polisakarida dalam matriks ekstraseluler, yang memberi warna pada sel yang hidup, mati, dan juga matriks biofilm. Setiap *wells* akan diberi perlakuan dengan kristal violet 0,1%, sehingga kristal violet akan tetap terikat pada bagian yang memiliki biofilm. Jika terlihat warna ungu menyerupai cincin di dasar *wells*, menandakan bahwa biofilm telah terbentuk, kemudian diinkubasi pada suhu ruang (Rollando, 2017). Kemudian tambahkan etanol 96 ke dalam setiap *wells* yang memiliki cincin berwarna ungu di bagian bawahnya untuk melarutkan kristal violet, lalu inkubasi pada suhu ruang (Besan *et al.*, 2023).

Tabel 4. Hasil Uji Penghambatan Biofilm EEDC *S.aureus* ATCC 6538

Perlakuan	<i>Optical Density</i>				Rata-rata OD ± SD	%Penghambatan
	Replikasi					
	1	2	3	4		
EEDC 2,5%	0,135	0,135	0,134	0,127	0,133 ± 0,004	0,019
EEDC 5%	0,105	0,092	0,089	0,097	0,096 ± 0,007	27,98
EEDC 10%	0,093	0,082	0,087	0,085	0,087 ± 0,005	34,64
EEDC 20%	0,073	0,091	0,071	0,075	0,077 ± 0,009	41,75
EEDC 40%	0,073	0,074	0,079	0,073	0,075 ± 0,003	43,67
K+ 0,0625mg/ml	0,056	0,188	0,094	0,047	0,096 ± 0,064	27,82
K+ 0,125mg/ml	0,056	0,070	0,051	0,051	0,057 ± 0,009	57,14
K+ 0,25mg/ml	0,045	0,067	0,049	0,063	0,056 ± 0,010	57,89
K+ 0,5mg/ml	0,052	0,058	0,052	0,049	0,053 ± 0,003	60,15

K+ 1mg/ml	0,052	0,047	0,051	0,047	0,049 ± 0,003	72,41
K-	0,111	0,159	0,122	0,139	0,133 ± 0,021	0,00

Keterangan : K+ (Kontrol Positif : sampel yang berisikan Ampisillin dengan seri kadar 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,125 mg/ml, 0,0625 mg/ml; K- (Kontrol Negatif : sampel yang berisikan DMSO 1%); Seri kadar EEDC secara berturut-turut 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40%; SD : *standard deviation* atau simpangan baku

Kemudian *microplate 96 wells* yang sudah ditambahkan etanol 96 dibaca absorbansinya menggunakan *Microplate reader*, pada panjang gelombang 620 nm. *Microplate reader* digunakan karena dapat melakukan analisa antigen atau antibodi yang terdeteksi pada permukaan media dengan banyak sampel sehingga lebih cepat untuk mendapatkan hasil. Hasil dari penelitian ini menunjukkan EEDC memiliki aktivitas penghambatan biofilm terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 ditandai dengan nilai OD lebih rendah dibandingkan kontrol negatif. Setiap peningkatan konsentrasi, aktivitas penghambatan biofilm juga mengalami peningkatan. Semakin besar konsentrasi EEDC, maka semakin rendah nilai OD yang diperoleh. Pada penelitian ini dihasilkan pada konsentrasi 40% didapatkan nilai OD sebesar 0,075. Presentase penghambatan tertinggi terdapat pada konsentrasi 40% dengan presentase penghambatan mencapai 43,67%.

Berdasarkan hasil penelitian (Shehabeldine *et al.*, 2023), cengkeh memiliki efek penghambatan biofilm yang signifikan terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 dan mengurangi perkembangan biofilm secara signifikan. Hal ini dikarenakan cengkeh memiliki kemampuan untuk menghambat pembentukan biofilm karena mengandung zat aktif seperti tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Pada tahap pencegahan pertumbuhan, alkaloid berfungsi dengan menghalangi *quorum sensing* (Gupta *et al.*, 2016). Tanin berfungsi untuk menghambat gen *icaA* dan *icaD*. Flavonoid mampu merusak membran sel secara permanen serta menimbulkan perubahan pada struktur protein dan asam nukleat, yang mengakibatkan degradasi protein. Terpenoid dapat merusak porin dengan cara membentuk ikatan polimer yang kuat, sehingga sel mengalami kekurangan zat gizi sehingga akan menghambat pertumbuhan biofilm (Fitriyah & Cahyaningrum, 2023).

12. KESIMPULAN PENELITIAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun cengkeh memiliki kandungan senyawa eugenol, memiliki kemampuan sebagai antibakteri *S.aureus* ATCC 6538 dan *E.coli* ATCC 25922, dan penghambatan biofilm bakteri *S.aureus* ATCC 6538.

13. STATUS LUARAN WAJIB

Status luaran wajib berupa draft publikasi

14. DOKUMEN LUARAN WAJIB

terlampir

15. LINK LUARAN WAJIB

Manuskript belum terpublikasi

16. STATUS LUARAN TAMBAHAN

Tidak ada

17. DOKUMEN LUARAN TAMBAHAN

Tidak ada

18. LINK LUARAN TAMBAHAN

Tidak ada

19. PERAN MITRA (JIKA ADA)

Tidak ada mitra

20. DAFTAR PUSTAKA

Terlampir pada karya ilmiah

21. LAMPIRAN-LAMPIRAN

Draf manuskrip publikasi

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum L.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 DAN *Escherichia coli* ATCC 25922

Rima Erviana¹, Ajeng Bondan Subagio¹, Vella Laili Damarwati², and Annisa Krisridwany³

¹Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Indonesia

²Department of Biology, School of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Indonesia

³Department of Physical Pharmacy, School of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Indonesia

corresponding author: rima@umy.ac.id

Penggunaan antibiotik yang berulang dan tidak terkontrol dalam pengobatan infeksi bakteri telah menyebabkan peningkatan resistensi antimikroba, sehingga dibutuhkan alternatif terapi baru yang berasal dari bahan alam, salah satunya adalah daun cengkeh. Daun cengkeh telah dikenal memiliki kandungan senyawa aktif seperti eugenol, flavonoid, tanin, dan saponin, yang diduga berkontribusi terhadap aktivitas antibakterinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar eugenol dalam daun cengkeh, aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cengkeh terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 dan *E.coli* ATCC 25922, dan aktivitas penghambatan biofilm bakteri *S.aureus* ATCC 6538. Metode yang digunakan untuk uji kadar eugenol adalah KLT-Densitometri, uji aktivitas antibakteri adalah difusi cakram disk dengan variasi konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, dan 2,5% dan metode aktivitas penghambatan biofilm menggunakan metode *microtiter broth dilution* dengan variasi konsentrasi yang sama seperti uji aktivitas antibakteri. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya kandungan eugenol di dalam daun cengkeh, aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 dengan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 40%, 20%, 10% dengan rata-rata sebesar 16,26 mm; 12,96 mm ; 10,79 mm kategori kuat dan sedang. Pada *E.coli* ATCC 25922 terbentuk zona hambat pada konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, dan 2,5% dengan rata-rata sebesar 14,73 mm; 12,47 mm; 10,32 mm; 9,24 mm; 7,73 mm kategori kuat dan sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Terdapat aktivitas penghambatan biofilm terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 pada konsentrasi terbesar 40% menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan dan biofilm sebesar 43,67%. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun cengkeh memiliki kandungan senyawa eugenol, memiliki kemampuan sebagai antibakteri *S.aureus* ATCC 6538 dan *E.coli* ATCC 25922, dan penghambatan biofilm bakteri *S.aureus* ATCC 6538. **Kata kunci** : Antibakteri, ekstrak etanol daun cengkeh, eugenol, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922.

PENDAHULUAN

Menurut laporan *World Health Organization* (WHO) tahun 2015, penyakit infeksi merupakan penyebab kematian terbesar pada anak-anak dan orang dewasa dengan jumlah kematian lebih dari 13 juta jiwa setiap tahunnya. Salah satu penyakit infeksi yang sering dialami oleh masyarakat yaitu penyakit infeksi kulit dan diare yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Zarah *et al.*, 2022). Infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan timbulnya tanda-tanda penyakit seperti kemerahan, pembentukan abses, peradangan, dan nyeri di area yang terinfeksi (Kalu *et al.*, 2022). Penyakit yang dapat disebabkan oleh *Escherichia coli*, diantaranya infeksi saluran pencernaan, infeksi saluran kemih, dan meningitis (Fariani & Advinda, 2022).

Antibiotik diberikan sebagai salah satu cara untuk mengobati penyakit yang disebabkan infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan pemberian dalam jangka waktu yang panjang dapat mengakibatkan terjadinya resistensi bakteri. Apabila terjadi resistensi maka dapat mengakibatkan bahan antibiotika sintesis menjadi tidak efektif dan bisa memberikan efek samping selama penggunaan (Nurcholis *et al.*, 2019). Perlu untuk mencari sumber antibiotik alami dikarenakan saat ini sudah banyak ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang resisten terhadap beberapa antibiotik (Ramadhani *et al.*, 2020). Sebagian besar sampel *Staphylococcus aureus* yang diisolasi menunjukkan kemampuan membentuk biofilm dan menunjukkan hasil resistensi terhadap ampisilin, cefoxitin, ciprofloxacin, eritromisin, kloramfenikol, dan vankomisin (Alarjani & Skalicky, 2021). Isolat *Escherichia coli* diketahui resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam yaitu penisillin, ampisillin dan antibiotik tetrasiklin. Bakteri *Escherichia coli* memiliki enzim betalaktamase yaitu enzim yang mampu menginaktivasi antibiotik betalaktam (Nurjanah *et al.*, 2020). Masalah resistensi bakteri ini dapat diatasi dengan mencari sumber antibakteri yang berasal dari bahan alam.

Penelitian terkait pemanfaatan bahan alam banyak mengalami perkembangan. Dalam hal ini sudah banyak penelitian terkait pemanfaatan bahan alam sebagai antibakteri. Pemanfaatan bahan alam untuk mengatasi infeksi kulit dan pencernaan cukup diminati oleh masyarakat karena memiliki sedikit efek samping. Permasalahan infeksi kulit dan diare yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat diatasi dengan memanfaatkan bahan alam yang memiliki sifat antibakteri, contohnya seperti tanaman cengkeh yang mengandung senyawa bioaktif yaitu eugenol dan flavonoid (Nastiti *et al.*, 2024). Daun cengkeh memiliki kandungan senyawa kimia aktif seperti eugenol, flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri (Azizah *et al.*, 2017). Terdapat senyawa aktif lainnya yaitu fenolik dan terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri (Pradana *et al.*, 2024).

Eugenol merupakan komponen yang paling banyak ditemukan di minyak atsiri cengkeh, sebesar 70-96% (Nirmala, 2020). Komponen yang terkandung di daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) dapat menimbulkan aroma yang khas. Minyak tersebut memiliki sifat stimulant, antiseptik, anestetik, dan antispasmodik (Nurdjannah, 2016). Senyawa ini juga memiliki kemampuan antifungi dan antibakteri yang sangat efektif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Selain eugenol, terdapat senyawa flavonoid yang telah diketahui memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Safitri & Purnamawati, 2021). Senyawa eugenol merupakan bahan kimia antibakteri yang dapat menekan pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif (Agustinisari *et al.*, 2020). Memiliki sifat lipofilik (larut dalam lemak) dapat mengakibatkan terjadinya adhesi dengan membran sel bakteri sehingga tekanan osmotik akan meningkat, menyebabkan kerusakan membran sel dan menghambat respirasi bakteri. Proses respirasi terhambat dapat menimbulkan terganggunya transport ion sel sehingga bakteri mengalami kematian.

Salah satu bagian dari tanaman cengkeh yang dapat digunakan sebagai obat untuk menghambat pertumbuhan bakteri adalah daun cengkeh. Daun cengkeh sering dimanfaatkan sebagai sumber minyak cengkeh. Penelitian sebelumnya telah mengungkapkan bahwa pada bagian daun cengkeh mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, fenolat, dan tanin yang merupakan senyawa bersifat antibakteri (Huda *et al.*, 2018). Pada penelitian sebelumnya, konsentrasi terkecil daun cengkeh yang mampu menghambat bakteri gram positif dan gram negatif terdapat di konsentrasi 10% (Dewi *et al.*, 2021).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram. Pada metode difusi cakram akan dilakukan pengukuran zona hambat. Setelah itu dilakukan pengujian antibiofilm untuk melihat aktivitas penghambatan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* (Dewi *et al.*,

2020). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait potensi daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) sebagai sumber alternatif bahan alam antibakteri, sehingga nantinya dapat dikembangkan menjadi obat alternatif antibakteri dan dapat mengatasi masalah resistensi bakteri.

METHOD

1. SKRINING FITOKIMIA

a. Flavonoid

Ekstrak etanol daun cengkeh ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml etanol 96% dan dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan 0,2 gram serbuk magnesium (Mg). Uji flavonoid positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah.

b. Saponin

Ekstrak etanol daun cengkeh ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu dilarutkan dalam 5 ml aquades dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih stabil selama kurang lebih 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan ditetesi 1 tetes asam klorida (HCl) 1N buih tidak hilang, menandakan ekstrak tersebut positif mengandung saponin.

c. Tannin

Ekstrak etanol daun cengkeh ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 10 ml air panas dan tetesi dengan besi (III) klorida (FeCl_3). Jika timbul warna hijau kehitaman menandakan ekstrak positif mengandung tanin.

d. Terpenoid

Ekstrak etanol daun cengkeh ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 1 ml asetat glasial ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) kemudian ditambahkan 3 tetes H_2SO_4 pekat. Ekstrak positif terpenoid jika terdapat perubahan warna menjadi merah.

e. Alkaloid

Ekstrak etanol daun cengkeh ditimbang sebanyak 0,5 gram, ditambahkan 1 ml HCl 2N, dan 9 ml aquades. Panaskan diatas penangas air selama 2 menit, kemudian di dinginkan dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang telah di saring dibagi 3 ke dalam tabung reaksi. Filtrat yang telah dibagi 3 akan diuji dengan pereaksi mayer, dragendroff, dan bouchardat. Pada pengujian dengan pereaksi mayer akan terbentuk endapan putih atau kuning, menandakan adanya senyawa alkaloid.

f. Fenolik

Ekstrak etanol daun cengkeh ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 ml etanol 96%, lalu dibagi menjadi 2 bagian. Tabung reaksi 1 dijadikan blangko dan tabung reaksi 2 ditetesi FeCl_3 1% sebanyak 3 tetes. Ekstrak positif fenolik ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau, biru, atau merah.

2. UJI ANTIBAKTERI

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengoleskan suspensi bakteri yang sudah dicek absorbansinya menggunakan *cotton swab* steril ke media NA cawan petri. Kertas cakram ditetesi sebanyak 20 μl larutan ekstrak etanol daun cengkeh yang sudah dibuat dalam konsentrasi 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%, ampicillin 1 mg/ml sebagai kontrol positif, dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Kemudian kertas cakram yang sudah ditetesi ditempelkan diatas permukaan agar NA dan diinkubasi selama 16-24 jam dalam suhu 37° C. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dan zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter.

3. UJI PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM

Penghambatan biofilm dilakukan dengan metode mikrodilusi. Suspensi bakteri yang sudah diperiksa absorbansinya dicampurkan kemudian membuat pengenceran ekstrak daun cengkeh dalam konsentrasi (40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%), DMSO 1% sebagai kontrol negatif, dan ampisilin konsentrasi (1 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,125 mg/ml; 0,0625 mg/ml) sebagai kontrol positif. Larutan uji diletakkan pada *microplate* menggunakan *micropipet*. *Microplate* ditutup kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu inkubator 37°C. *Microplate* dikeluarkan dari inkubator kemudian dicuci sebanyak 3 kali dengan air suling dan dikeringkan dalam suhu kamar selama 15 menit dengan membalikkan *microplate*. Pada tiap sumuran diberikan 200 µl kristal violet 1% dan diamkan selama 15 menit kemudian dicuci kembali dengan air suling sebanyak 3 kali dan keringkan dengan mendiamkan selama 1 jam dengan membalikkan *microplate* di suhu kamar. Sebanyak 200 µl etanol 96% ditambahkan dan didiamkan selama 15 menit. Hasil uji diukur menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 620 nm. Presentase penghambatan biofilm dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Z. Y. Dewi *et al.*, 2015; Lukaraja *et al.*, 2020)

% Penghambatan biofilm

$$= 1 - \frac{DO \text{ kontrol negatif} - DO \text{ kontrol uji}}{DO \text{ kontrol negatif}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

4. SKRINING FITOKIMIA

Skринing fitokimia merupakan salah satu metode skринing kualitatif untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman dengan menggunakan pereaksi untuk melihat adanya perubahan yang menandakan adanya senyawa. Analisis yang akan dilakukan yaitu mengecek adanya senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, fenolik, terpenoid. Hasil skринing fitokimia bisa dilihat di tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skринing Fitokimia

Uji	Larutan Pereaksi	Warna	Ket.
Flavonoid	HCl pekat + Serbuk magnesium (Mg)	Merah	+
Saponin	Aquades + HCl 1N	Berbusa	+
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	Endapan putih atau kuning	+
	HCl 2N + Dragendroff	Endapan jingga sampai merah coklat	+
Tanin	FeCl ₃	Biru tua atau hijau kehitaman	+
Fenolik	Etanol 96% + FeCl ₃ 1%	Hijau, biru, atau merah	+
Terpenoid	CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat	Merah atau jingga	+

Keterangan : (+) : adanya senyawa aktif

Pada pengujian flavonoid pada EEDC menggunakan larutan asam berupa HCl pekat. Hasilnya menyatakan EEDC mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah. Warna merah yang terbentuk disebabkan oleh terjadinya reduksi dengan Mg dan HCl pekat. HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan digantikan oleh H⁺ dari asam

dikarenakan sifat elektrofiliknya (Ikalinus *et al.*, 2015). Sesuai dengan penelitian Arum Nata, *et al* (2024) pada pengujian ini dihasilkan ekstrak mengandung flavonoid dengan penambahan larutan HCl pekat dan Mg. Flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein, sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan terjadi pelepasan senyawa intraseluler (Tilarso *et al.*, 2021).

Kemudian pengujian saponin pada EEDC digunakan larutan aquades lalu dipanaskan dan ditambahkan HCl 1N, yang kemudian digojog selama ± 10 detik dan akan membentuk busa stabil >10 menit setinggi 1-10 cm. Terjadinya pembentukan busa dikarenakan senyawa yang memiliki gugus polar maupun non-polar bersifat aktif permukaan sehingga saat digojog dengan aquades atau air, saponin akan membentuk misel. Dalam struktur misel, gugus polar menghadap ke luar dan gugus non-polar menghadap ke dalam, keadaan ini yang akan tampak seperti busa (Muniah *et al.*, 2024). Setelah penambahan aquades kemudian dipanaskan, tujuan pemanasan yaitu untuk memperluas kelarutan saponin dalam aquades. Saponin punya dua gugus yang berbeda sifatnya yaitu hidrofilik dan hidrofobik yaitu aglikon (sapogenin). HCl ditambahkan pada uji saponin akan mengakibatkan peningkatan kepolaran saponin sehingga terjadi perubahan letak gugus penyusunnya. Saponin memiliki glikosil berfungsi untuk gugus polar dan terpenoid atau steroid berfungsi sebagai gugus non-polar (Armayanti *et al.*, 2023). Sesuai dengan pengujian (Suhendar & Sogandi, 2019b), pada pengujian ini ditambahkan aquades lalu dipanaskan dan ditambahkan HCl dihasilkan busa stabil yang menandakan adanya saponin. Saponin memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dalam sel bakteri (Rini *et al.*, 2017).

Kemudian pada pengujian alkaloid pada EEDC menggunakan pereaksi HCl 2N, Mayer, dan Dragendorff. Sebelum ditetesi pereaksi mayer dan dragendorff, EEDC ditambahkan HCl. Fungsi penambahan HCl untuk menarik kandungan alkaloid dalam EEDC, mengingat bahwa alkaloid bersifat basa dan saat ditambahkan HCl yang bersifat asam akan terbentuk garam, sehingga alkaloid terpisah dengan senyawa-senyawa lain yang berasal dari sel tumbuhan yang akan ikut terekstrak dengan cara mendistribusikannya ke fase asam (Oktapiya *et al.*, 2022). Hasil penetesan dengan pereaksi mayer muncul endapan putih dan pada penetesan dengan pereaksi dragendorff terbentuk endapan jingga kemerahan. Hasil positif pada pereaksi mayer disebabkan senyawa alkaloid bereaksi dengan ion tetraiodomercurat (II) kemudian membentuk senyawa kompleks yang mengendap. Kemudian hasil positif pada pereaksi dragendorff disebabkan karena endapan yang terbentuk terdiri dari kalium-alkaloid, di mana nitrogen dalam uji alkaloid berinteraksi dengan pereaksi dragendorff untuk menghasilkan ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang termasuk dalam kategori ion logam. Hal ini dapat terjadi karena ion merkuri adalah ion logam berat yang dapat mengendapkan senyawa alkaloid yang memiliki sifat basa (Armayanti *et al.*, 2023). Sesuai dengan pengujian (Suhendar & Sogandi, 2019b), pada pengujian ini EEDC menunjukkan hasil positif alkaloid. Alkaloid memiliki kemampuan antibakteri dengan mengganggu elemen yang menyusun peptidoglikan dalam sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk sempurna dan menyebabkan kematian sel (Nurhasanah & Gultom, 2020).

Pengujian tanin pada EEDC menggunakan pereaksi $FeCl_3$ yang menunjukkan hasil positif tanin dengan timbulnya warna hijau kehitaman. Fungsi penambahan $FeCl_3$ yaitu untuk menghidrolisis golongan tanin yang akan menghasilkan warna hijau kehitaman di tanin terkondensasi. Hasil warna hijau kehitaman disebabkan karena tanin adalah senyawa polar yang ketika ditambahkan $FeCl_3$ akan terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru tua yang menunjukkan adanya tanin (Oktapiya *et al.*, 2022). Hal ini sesuai dengan penelitian (Arum *et al.*, 2024), dihasilkan warna hijau kehitaman yang

menunjukkan adanya tanin. Tanin memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan mengganggu permeabilitas sel bakteri dan dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel bakteri (Hidayatullah & Mourisa, 2023).

Kemudian pada pengujian fenolik menggunakan penambahan etanol 96% dan pereaksi FeCl_3 1%, hasil positif fenolik dengan timbulnya warna hijau, biru, atau merah. Fungsi penambahan pereaksi FeCl_3 yaitu untuk membentuk senyawa kompleks dan saat terbentuk senyawa kompleks akan terjadi perubahan warna yang bisa diidentifikasi. Senyawa fenol akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Wardhani & Supartono, 2015). Hasil perubahan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak mengandung tannin katekol (senyawa derivat fenol) (Bayani, 2016). Hasil ini sesuai dengan penelitian (Suhendar & Sogandi, 2019b), dihasilkan warna hijau yang menunjukkan positif fenolik. Fenolik memiliki mekanisme antibakteri dengan mendenaturasi protein membran sel melalui ikatan hidrogen yang terbentuk, dengan merusak struktur tersier dari protein yang menyebabkan kerusakan protein dan menyebabkan protein tidak dapat berfungsi. Fungsi protein ini untuk metabolisme sel bakteri (Hidayatullah & Mourisa, 2023).

Pada pengujian terpenoid EEDC diuji menggunakan metode *Liebermann-Buchard* menggunakan penambahan pereaksi asam asetat glasial dan pereaksi H_2SO_4 pekat, menunjukkan perubahan warna menjadi merah atau jingga. Fungsi penambahan asam asetat glasial adalah memisahkan gugus steroid-terpenoid dengan gugus-gugus lain. Kemudian ditambahkan asam sulfat pekat (H_2SO_4 pekat) dengan tujuan untuk memisahkan ikatan gula pada senyawa. Apabila ikatan gula terputus maka hasil positif steroid-terpenoid bebas dalam sampel akan ditandai dengan munculnya cincin berwarna merah. Pengujian ini didasarkan pada potensi senyawa terpenoid dalam menghasilkan warna saat ditambahkan H_2SO_4 pekat dan asam asetat glasial yang memunculkan warna jingga (Puspa *et al.*, 2017). Hasil dari analisis fitokimia ini menunjukkan EEDC mengandung senyawa terpenoid yang ditandai dengan munculnya warna jingga. Hal ini sesuai dengan pengujian (Arum *et al.*, 2024), yang positif adanya terpenoid. Terpenoid memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan menyebabkan pengurangan kemampuan permeabilitas membran sel bakteri yang diakibatkan oleh senyawa terpenoid yang berinteraksi dengan porin (protein yang melintasi membran) pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat, sehingga menyebabkan kerusakan porin yang berfungsi sebagai saluran keluar masuk senyawa dan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri (Hidayatullah & Mourisa, 2023).

5. UJI ANTIBAKTERI

Penelitian uji aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi kertas cakram (*disk diffusion*). Metode difusi kertas cakram dalam pengujian antibakteri menunjukkan tingkat kecocokan berkisar antara 82.0%-100% yang bergantung pada tipe antibiotik yang diterapkan (Rahman *et al.*, 2022). Dapat dimanfaatkan untuk senyawa non-polar, cepat, praktis, dan mudah (Mengko *et al.*, 2022). Dapat digunakan untuk mengamati aktivitas antibakteri pada konsentrasi tertentu di berbagai jenis bakteri (Ramadhani & Novema, 2022).

Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan bakteri *S.aureus* (*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538 dan *E.coli* (*Escherichia coli*) ATCC 25922 kemudian dilakukan 3 kali replikasi. Sampel yang digunakan adalah EEDC dengan variasi konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, dan 2,5%. Dibuat variasi konsentrasi dikarenakan untuk mengamati perbedaan kemampuan penghambatan yang disebabkan oleh variasi konsentrasi. Uji dilakukan 3 kali replikasi dikarenakan untuk memperoleh hasil yang lebih tepat (Wardaniati & Gusmawarni, 2021). Kemudian kontrol positif yang digunakan adalah ampisillin 1 mg/ml dan untuk kontrol negatif yaitu DMSO 1%. Ampisillin digunakan dan

dipilih sebagai kontrol positif dikarenakan untuk menguji apakah pertumbuhan bakteri yang dipakai dapat dihambat atau melihat apakah bakteri tersebut memiliki sifat resisten terhadap senyawa antibakteri. Ampisillin termasuk dalam kelompok penisillin yang memiliki rentang efek yang luas, sehingga dipilih sebagai kontrol positif karena kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Cara kerja Ampisillin sebagai antibiotik adalah dengan menghalangi sintesis dinding sel bakteri. Gangguan yang terjadi pada sintesis dinding sel ini menyebabkan bakteri gagal dalam mengatasi tekanan osmotik yang ada di dalam dan luar sel, yang akhirnya menyebabkan sel bakteri tersebut pecah dan menyebabkan bakteri mati (Rakasiwi *et al.*, 2023). DMSO 1% digunakan sebagai kontrol negatif dikarenakan tidak memberikan aktivitas hambatan pada bakteri yang sedang diuji (Rizki *et al.*, 2021). Penggunaan kontrol positif untuk kontrol dari agen uji, dengan membandingkan luas area hambatan yang terbentuk, lalu untuk kontrol negatif digunakan untuk menunjukkan apakah EEDC dipengaruhi oleh pelarutnya atau tidak (Mengko *et al.*, 2022b). Data yang akan didapatkan adalah ukuran diameter zona hambat dengan melihat area bening yang berada di sekitar kertas cakram pada setiap tingkat konsentrasi.

Tabel 2. Hasil pengukuran Zona Hambat Antibakteri *S.aureus* ATCC 6538

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) ± SD	Kategori Zona Hambat
K+	32,06 ± 0,04*	Sangat kuat
K-	0	Tidak ada
Konsentrasi EEDC 2,5% (5)	0	Tidak ada
Konsentrasi EEDC 5% (4)	0	Tidak ada
Konsentrasi EEDC 10% (3)	10,79 ± 0,36*	Sedang
Konsentrasi EEDC 20% (2)	12,96 ± 1,63*	Kuat
Konsentrasi EEDC 40% (1)	16,26 ± 0,04*	Kuat

Keterangan : K+ (Kontrol Positif : sampel yang berisikan Ampisillin 1mg/ml; K- (Kontrol Negatif : sampel yang berisikan DMSO 1%); Seri kadar EEDC secara berturut-turut 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40%; SD : *standard deviation* atau simpangan baku; (*) : merupakan sig ≤ 0,05 menandakan adanya perbedaan signifikan.

Hasil uji antibakteri EEDC terhadap *S.aureus* ATCC 6538 pada Gambar 8 menunjukkan adanya zona hambatan atau bening disekitar kertas cakram. Hasil pengukuran uji antibakteri pada penelitian ini dapat dilihat di Tabel 6. Pengujian aktivitas antibakteri EEDC menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 6538 dengan terbentuk zona hambat pada konsentrasi 10% sebesar 10,79 mm, konsentrasi 20% sebesar 12,96 mm, konsentrasi 40% sebesar 16,26 mm. Berdasarkan dalam kategori zona hambat bakteri, konsentrasi 10%, 20%, dan 40% memiliki kemampuan zona hambat yang sedang dan kuat, hal ini menandakan semakin besar konsentrasi EEDC maka semakin luas pula zona hambatan yang terbentuk.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Huda *et al.*, 2018), semakin naik konsentrasi ekstrak maka akan semakin besar kandungan antibakteri dalam ekstrak cengkeh, sehingga akan semakin tinggi aktivasi antibakteri dalam menghambat perkembangan atau pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram menandakan konsentrasi tersebut memiliki kandungan antibakteri, hal ini dikarenakan daun cengkeh memiliki kandungan eugenol, triterpenoid, dan fenol yang bekerja sebagai antibakteri.

Eugenol adalah komponen dominan yang berada dalam cengkeh, dengan proporsi antara 78%-95%. Eugenol merupakan kelompok senyawa fenol yang bersifat asam lemah. Senyawa eugenol merupakan senyawa antibakteri yang dapat menghalangi perkembangan bakteri patogen, baik yang termasuk dalam kategori Gram positif maupun Gram negatif. Eugenol sebagai asam lemah, senyawa fenolik dapat mengalami ionisasi dengan melepaskan ion H^+ dan meninggalkan bagian yang bermuatan negatif. Keadaan bermuatan negatif ini akan ditolak oleh dinding sel bakteri Gram positif yang juga memiliki muatan negatif di dalamnya, sehingga fenol dapat berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen Gram positif (Huda *et al.*, 2018). Pada Gram negatif, eugenol merusak membran sel sitoplasma. Sebagai senyawa hidrofobik, eugenol dengan mudah dapat menembus membran sel ke dalam lipoposakarida dan memasukin bagian dalam sitoplasma. Setelah berada di dalam sel, eugenol dapat mengakibatkan perubahan pada struktur sel, yang berujung pada kebocoran elemen intraseluler (Ulanowska & Olan, 2021). Kemudian triterpenoid berfungsi sebagai antibakteri, bekerja dengan cara berinteraksi dengan porin (protein transmembran), yaitu protein yang berada di membran luar dinding sel bakteri. Interaksi ini mengakibatkan pembentukan ikatan polimer yang kokoh, yang pada gilirannya merusak porin. Sel-sel bakteri yang terpengaruh akan mengalami kekurangan nutrisi, yang menyebabkan pertumbuhannya terhenti atau mati. Kemudian untuk fenol sebagai antibakteri dengan mengubah bentuk protein dalam sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein menyebabkan kerusakan pada struktur protein (Lambiju *et al.*, 2017).

Tabel 3. Hasil pengukuran Zona Hambat Antibakteri *E.coli* ATCC 25922

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) ± SD	Kategori Zona Hambat
K+	20,47 ± 0,02*	Kuat
K-	0	Tidak ada
Konsentrasi EEDC 2,5% (5)	7,73 ± 0,80*	Sedang
Konsentrasi EEDC 5%(4)	9,24 ± 1,29*	Sedang
Konsentrasi EEDC 10% (3)	10,32 ± 2,01*	Sedang
Konsentrasi EEDC 20% (2)	12,47 ± 2,13*	Kuat
Konsentrasi EEDC 40% (1)	14,73 ± 0,59*	Kuat

Keterangan : K+ (Kontrol Positif : sampel yang berisikan Ampisillin 1mg/ml; K- (Kontrol Negatif : sampel yang berisikan DMSO 1%); Seri kadar EEDC secara berturut-turut 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40%; SD : *standard deviation* atau simpangan baku; (*) : merupakan $\text{sig} \leq 0,05$ menandakan adanya perbedaan signifikan.

Hasil dari pengujian antibakteri EEDC terhadap bakteri *E.coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada Gambar 9 menunjukkan adanya area bening atau terbentuknya zona hambatan yang muncul disekitar kertas cakram. Data hasil pengukuran uji antibakteri *E.coli* ATCC 25922 pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 9. Uji aktivitas antibakteri EEDC menunjukkan adanya kemampuan aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* ATCC 25922 dengan terbentuknya zona hambatan pada konsentrasi 2,5% sebesar 7,73 mm, konsentrasi 5% sebesar 9,24 mm, konsentrasi 10% sebesar 10,32 mm, konsentrasi 20% sebesar 12,47, dan konsentrasi 40% sebesar 14,73 mm. Berdasarkan dalam kategori zona hambatan bakteri, konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% memiliki kemampuan zona hambatan yang sedang hingga kuat, hal ini menunjukkan

bahwa semakin tinggi konsentrasi EEDC, maka semakin luas zona hambatan yang terbentuk.

Pada pengujian aktivitas antibakteri EEDC *E.coli* ATCC 25922 dapat menunjukkan aktivitas hambatan di semua konsentrasi yaitu 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40% dibandingkan pada bakteri *S.aureus* ATCC 6538 yang hanya dapat menghambat di konsentrasi 10%, 20%, dan 40%. Berdasarkan penelitian (Dima & Astuty, 2016), yang meneliti efektivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*, menunjukkan hasil diameter zona hambat *E.coli* lebih besar dibandingkan diameter zona hambat *S.aureus*. Hal ini dikarenakan bakteri *E.coli* termasuk kategori bakteri Gram negatif, sementara *S.aureus* merupakan bakteri Gram positif. Oleh karena itu, kedua bakteri tersebut memiliki struktur dinding sel yang berbeda. Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tipis, yang membuatnya lebih rentan terhadap kerusakan. Sebaliknya, bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dan kokoh, sehingga lebih tahan pengaruh agen antibakteri atau penggunaan antibiotik (Ramadhani & Novema, 2022).

6. UJI PENGHAMBATAN BIOFILM

Pengujian penghambatan biofilm dilaksanakan menggunakan metode *Microtiter broth dilution* yang artinya menggunakan media yang cair, suspensi bakteri, dan senyawa uji yang dibuat pengenceran bertingkat yang menggunakan *microplate 96 wells*, kemudian diamati nilai konsentrasi bakteri atau kerentanan bakteri (*Optical Density* atau OD) yang ada di dalam tiap *wells* atau sumuran yang dilihat menggunakan instrument *Microplate reader* yang kemudian akan diaplikasikan dalam nilai absorbansi. Hasil nilai absorbansi dapat dilihat di Tabel 4.

Uji penghambatan biofilm menggunakan suspensi bakteri *S.aureus* ATCC 6538, karena merupakan salah satu jenis bakteri yang mampu memicu berbagai penyakit dan memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm sehingga memiliki kemampuan untuk melindungi diri dari antibiotik (Muhammad & Agustiningtyas, 2021). Setelah melalui tahap inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°, yang merupakan waktu optimal pembentukan biofilm (Singh *et al.*, 2017). Selanjutnya, media yang ada di dalam *wells* dibuang dan dicuci sebanyak 3 kali, dengan tujuan untuk menghilangkan sel-sel planktonic serta komponen media yang tidak melekat. *Wells* diwarnai dengan kristal violet 0,1%, tujuan menggunakan pewarna kristal violet karena merupakan pewarna dasar yang dapat berinteraksi dengan molekul bermuatan negatif serta polisakarida dalam matriks ekstraseluler, yang memberi warna pada sel yang hidup, mati, dan juga matriks biofilm. Setiap *wells* akan diberi perlakuan dengan kristal violet 0,1%, sehingga kristal violet akan tetap terikat pada bagian yang memiliki biofilm. Jika terlihat warna ungu menyerupai cincin di dasar *wells*, menandakan bahwa biofilm telah terbentuk, kemudian diinkubasi pada suhu ruang (Rollando, 2017). Kemudian tambahkan etanol 96 ke dalam setiap *wells* yang memiliki cincin berwarna ungu di bagian bawahnya untuk melarutkan kristal violet, lalu inkubasi pada suhu ruang (Besan *et al.*, 2023).

Tabel 4. Hasil Uji Penghambatan Biofilm EEDC *S.aureus* ATCC 6538

Perlakuan	<i>Optical Density</i>				Rata-rata OD ± SD	% Penghambatan
	Replikasi					
	1	2	3	4		

EEDC 2,5%	0,135	0,135	0,134	0,127	0,133 ± 0,004	0,019
EEDC 5%	0,105	0,092	0,089	0,097	0,096 ± 0,007	27,98
EEDC 10%	0,093	0,082	0,087	0,085	0,087 ± 0,005	34,64
EEDC 20%	0,073	0,091	0,071	0,075	0,077 ± 0,009	41,75
EEDC 40%	0,073	0,074	0,079	0,073	0,075 ± 0,003	43,67
K+ 0,0625mg/ml	0,056	0,188	0,094	0,047	0,096 ± 0,064	27,82
K+ 0,125mg/ml	0,056	0,070	0,051	0,051	0,057 ± 0,009	57,14
K+ 0,25mg/ml	0,045	0,067	0,049	0,063	0,056 ± 0,010	57,89
K+ 0,5mg/ml	0,052	0,058	0,052	0,049	0,053 ± 0,003	60,15
K+ 1mg/ml	0,052	0,047	0,051	0,047	0,049 ± 0,003	72,41
K-	0,111	0,159	0,122	0,139	0,133 ± 0,021	0,00

Keterangan : K+ (Kontrol Positif : sampel yang berisikan Ampisillin dengan seri kadar 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,125 mg/ml, 0,0625 mg/ml; K- (Kontrol Negatif : sampel yang berisikan DMSO 1%); Seri kadar EEDC secara berturut-turut 2,5%, 5%, 10%, 20%, dan 40%; SD : *standard deviation* atau simpangan baku

Kemudian *microplate 96 wells* yang sudah ditambahkan etanol 96 dibaca absorbansinya menggunakan *Microplate reader*, pada panjang gelombang 620 nm. *Microplate reader* digunakan karena dapat melakukan analisa antigen atau antibodi yang terdeteksi pada permukaan media dengan banyak sampel sehingga lebih cepat untuk mendapatkan hasil. Hasil dari penelitian ini menunjukkan EEDC memiliki aktivitas penghambatan biofilm terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 ditandai dengan nilai OD lebih rendah dibandingkan kontrol negatif. Setiap peningkatan konsentrasi, aktivitas penghambatan biofilm juga mengalami peningkatan. Semakin besar konsentrasi EEDC, maka semakin rendah nilai OD yang diperoleh. Pada penelitian ini dihasilkan pada konsentrasi 40% didapatkan nilai OD sebesar 0,075. Presentase penghambatan tertinggi terdapat pada konsentrasi 40% dengan presentase penghambatan mencapai 43,67%.

Berdasarkan hasil penelitian (Shehabeldine *et al.*, 2023), cengkeh memiliki efek penghambatan biofilm yang signifikan terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 6538 dan mengurangi perkembangan biofilm secara signifikan. Hal ini dikarenakan cengkeh memiliki kemampuan untuk menghambat pembentukan biofilm karena mengandung zat aktif seperti tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Pada tahap pencegahan pertumbuhan, alkaloid berfungsi dengan menghalangi *quorum sensing* (Gupta *et al.*, 2016). Tanin berfungsi untuk menghambat gen *icaA* dan *icaD*. Flavonoid mampu merusak membran sel secara permanen serta menimbulkan perubahan pada struktur protein dan asam nukleat, yang mengakibatkan degradasi protein. Terpenoid dapat merusak porin dengan cara membentuk ikatan polimer yang kuat, sehingga sel

mengalami kekurangan zat gizi sehingga akan menghambat pertumbuhan biofilm (Fitriyah & Cahyaningrum, 2023).

REFERENCES

- Agustinisari, I., Mulia, K., & Nasikin, M. (2020). The Effect Of Eugenol And Chitosan Concentration On The Encapsulation Of Eugenol Using Whey Protein-Maltodextrin Conjugates. *Applied Sciences* (Switzerland), 10(9). <https://doi.org/10.3390/app10093205>
- Amanda Rizki, S., Latief, M., & Rahman, H. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, Dan Etanol Daun Durian (*Durio Zibethinus* Linn.) Terhadap Bakteri Anggreini, R. (2015). Analisis Cemaran Bakteri *Escherichia coli* (E. Coli) O157:H7 Pada Daging Sapi Di Kota Makassar. Universitas Hasanuddin.
- Apriliana, E., Ramadhian, M. R., Warganegara, E., Aminah, S., & Hasibuan, S. A. (2018). Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. In *J Agromedicine Unila* | (Vol. 5).
- Arreneuz, S., Agus Wibowo, M., & Hadari Nawawi, J. H. (2015). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Soma (*Ploiarium Alternifolium* Melch) Terhadap Jamur *Malassezia Furfur* Dan Bakteri *Staphylococcus aureus* . 4(3), 84–93.
- Arum, N. S., Fery Yuniarto, P., An Nisa Sukmawati, D., Bin Abd Kadir, M., & Delima Nuardani, H. (2024). Potensi Antipiretik Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*. L) Pada Mencit Jantan (*Mus Musculus*) Dengan Metode Induksi Pepton. *Jurnal Inovasi Farmasi Indonesia* , 5(2), 113–125. <https://doi.org/10.30737/Jafi.V5i2.5688>
- Wardhani, R. A. P., & Supartono. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Pada Bakteri. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 4(1). <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/Ijcs>
- Azizah, A., Suswati, I., & Mulyo Agustin, S. (2017). Efek Anti Mikroba Ekstrak Bunga Cengkeh Efek Anti Mikroba Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (Mrsa) Secara In Vitro.
- Bayani, F. (2016). Analisis Fenol Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Buah Sentul (*Sandoricum Koetjape* Merr.). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Kimia*, 4(1).
- Burhan, A. H., Bintoro, D. W., Mardiyarningsih, A., & Nurhaeni, F. (2022). Studi Literatur: Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Dan Batang Tanaman Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. *Action Research Literate*, 6(2), 118–133. <https://doi.org/10.46799/Arl.V6i2.126>
- Cahyaningtyas, D. E., Gaina, C. D., & Tangkoda, E. (2024). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella* Sp., Dan *Staphylococcus aureus* Pada Ambing Dan Susu Kambing Peranakan Etawa. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 6(4).
- Sitorus, F. C. E., Dwi Wulansari, E., Sulistyarini, I., Yayasan Pharmasi Semarang Jl Letjen Sarwo Edi Wibowo Km, S., & Pucanggading Semarang, P. (2014). Uji Kandungan Fenolik Total Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Asam Paya (*Eleiodoxa Conferta* (Griff.) Burret) Terhadap *Staphylococcus aureus* . In *Media Farmasi Indonesia* (Vol. 15, Issue 2).
- Dewi, Z. Y., Nur, A., & Hertriani, T. (2015). Efek Antibakteri Dan Penghambatan Biofilm Ekstrak Sereh Terhadap *S.Mutans*.
- Dwi Wulansari, E., Lestari, D., Asma Khoirunissa, M., Pharmasi Semarang, Y., & Tengah, J. (2020). Kandungan Terpenoid Dalam Daun Ara (*Ficus Carica* L.) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* .

- Esati, N. K., Darmika, R., Oriana, E., & Prasetya, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air Daun Afrika Asal Bali Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. *Acta Holistica Pharmacia*, 3, 24–29.
- Fitriyah, L., & Cahyaningrum, E. S. (2023). Synthesis And Characterization Of Gel Chitosan-Nanosilver-Extract Of Pare Fruit (*Momordica Charantia*) As Antibacteria Against *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Chemical Science*, 12(1). [Http://Journal.Unnes.Ac.Id/Sju/Index.Php/Ijcs](http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs)
- Gupta, P., Chhibber, S., & Harjai, K. (2016). Subinhibitory Concentration Of Ciprofloxacin Targets Quorum Sensing System Of *Pseudomonas Aeruginosa* Causing Inhibition Of Biofilm Formation & Reduction Of Virulence. *Indian Journal Of Medical Research*, 143(May), 643–651. [Https://Doi.Org/10.4103/0971-5916.187114](https://doi.org/10.4103/0971-5916.187114)
- Huda, M., Sulistia Ningsih, D., & Rodhiansyah. (2018). Efektivitas Ekstrak Bunga Cengkeh (*Eugenia Aromatica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Analisis Kesehatan*, 7(1).
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Luh, N., & Setiasih, E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*) Phytochemical Screening Ethanol Extract Skin Stem *Moringa (Moringa Oleifera)*. *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Dewi, C. I. D. Y., Ketut, E. D., & Ayu Alit Widhiartini, I. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum L.*) Terhadap Pertumbuhan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Medika Udayana*, 10(2). [Https://Doi.Org/10.24843.Mu.2021.V10.I2.P15](https://doi.org/10.24843.Mu.2021.V10.I2.P15)
- Lambiju, E. M., Wowor, P. M., & Leman, M. A. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum (L.)*) Terhadap Bakteri *Enterococcus Faecalis*. *Jurnal E-Gigi*, 5(1).
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. (Antibacterial Test Of Chitosan Nanoparticles Against *Staphylococcus aureus* And *Escherichia coli*).
- Mengko, K. R., Wewengkang, D. S., & Rumondor, E. M. (2022b). Antibacterial Activity Test Of *Theonella Swinhoei* Extracts Against The Growth Of *Escherichia coli* And *Staphylococcus aureus* Bacteria. 11(1).
- Nirmala, Y. (2020). Peluang Penambahan Antioksidan Dari Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Dan Kunyit (*Curcuma Longa*) Untuk Mengatasi Ketengikan Pada Minyak Nabati.
- Nurdjannah, N. (2016). Diversifikasi Penggunaan Cengkeh.
- Nurhasanah, & Gultom, E. S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata*) Terhadap Bakteri Mdr (Multi Drug Resistant) Dengan Metode Klt Bioautografi. *Jurnal Biosains*, 6(2), 45.
- Oktapiya, T. R., Pratama, N. P., & Purnamaningsih, N. (2022). Analisis Fitokimia Dan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*). *Sasambo Journal Of Pharmacy*, 3(2), 105–110. [Https://Doi.Org/10.29303/Sjp.V3i2.181](https://doi.org/10.29303/Sjp.V3i2.181)
- Oktaviantari, D. E., Feladita, N., & Agustin, R. (2019). Identification Of Hydroquinones In Cleaning Bleaching Soap Face At Three Beauty Clinics In Bandar Lampung With Thin Layer Chromatography And Uv-Vis Spectrophotometry. *Jurnal Analisis Farmasi*, 4(2), 91–97.
- Panuluh, P. D. (2019). Literatur Review Potensi Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Sebagai Antibakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (Mrsa) Antibacterial Potency Of Clove (*Syzygium Aromaticum*) Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (Mrsa). *Jiksh*, 10(2), 270–274. [Https://Doi.Org/10.35816/Jiskh.V10i2.168](https://doi.org/10.35816/Jiskh.V10i2.168)
- Pradana, A., Santosa, D., & Sulaiman, T. N. S. (2024). Potensi Cengkeh (*Syzygium Aromaticum (L.) Merr. & Perry*) Di Indonesia Sebagai Sumber Daya Alam Dan

- Bahan Baku Obat Antibakteri Dan Antijamur. *Majalah Farmaseutik*, 20(1), 70. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v20i1.86004>
- Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O. (2015). Biofilm Formation Mechanisms And Targets For Developing Antibiofilm Agents. In *Future Medicinal Chemistry* (Vol. 7, Issue 4, Pp. 493–512). Future Science Ltd. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.6>
- Rahmadani, F. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escheria coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*, Skripsi, Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Uin, Jakarta.
- Ramadhani, A., Saadah, S., & Sogandi. (2020). Efek Antibakteri Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (Jbbi)*, 7(2), 203–214. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v7i2.4146>
- Ramadhani, M. A., & Novema, A. P. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Dan Terpurifikasi Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Borobudur Pharmacy Review*, 2(1), 8–14. <https://doi.org/10.31603/bphr.v2i1.6934>
- Risnawati, F. (2024). Metallion Journal Of Chemistry Artikel Review Riview: Minyak Atsiri Tanaman Cengkeh. *Meta. J. Chem*, 1(2), 65–70.
- Saragih, D. E., & Arsita, E. V. (2019). Kandungan Fitokimia *Zanthoxylum acanthopodium* Dan Potensinya Sebagai Tanaman Obat Di Wilayah Toba Samosir Dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 5(1). <https://doi.org/10.13057/psnmbi/M050114>
- Sari, M. N., Elsanita, F., & Muyassaroh. (2020). Eugenol Dari Daun Cengkeh Menggunakan Metode Steam-Hydro Distillation Microwave Dengan Variasi Perlakuan Bahan Dan Daya Operasi. *Jurnal Teknik Kimia*, Vol 14, No.2.
- Muniaha, S. S., Dahlan, & Ode Mulyana, W. (2024). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Toksisitas Fraksi N-Heksan Dan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Batang Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 13. <http://sains.uho.ac.id/index.php/journal>
- Sauyai, A. Z., Mewengkang, H. W., & Timbowo, S. M. (2014). Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* Pada Air Pencuci Ikan Di Pasar Pinasungkulan Karombasan Manado. In *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan* (Vol. 2, Issue 2).
- Savitri, A., & Megantara, S. (2019a). Metode Klt-Densitometri Sebagai Penetapan Kadar Bahan Aktif Sediaan Farmasi. *Farmaka*, 17(2).
- Savitri, A., & Megantara, S. (2019b). Metode Klt-Densitometri Sebagai Penetapan Kadar Bahan Aktif Sediaan Farmasi. *Jurnal Farmaka*, 17(2).
- Sekarsari, S., Rai Widarta, I. W., & Jambe Anom, A. A. G. N. (2019). The Influence Of Time And Temperature With Ultrasonic Waves On Antioxidant Activity Of Extracts Guajava Leaves (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(3), 267–277.
- Septiani Agustien, G. (2021). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Hasil Ekstraksi Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata*) The Effect Of Solvent Type On Extraction Results *Sansevieria Leaves (Sansevieria trifasciata)*. In *Seminar Nasional Farmasi Uad*.
- Setiyanto, R., Suhesti, I., & Utami, A. D. (2024). Antibacterial And Antifungal Activities Of Extract And Fractions Of Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) Leaves Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Dari Ekstrak Dan Fraksi Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb). *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal Of Pharmacy)*, 20(1), 156–168. <http://journal.uji.ac.id/index.php/jif>

- Shahverdi, S., Barzegari, A. A., Vaseghi Bakhshayesh, R., & Nami, Y. (2023). In-Vitro And In-Vivo Antibacterial Activity Of Potential Probiotic *Lactobacillus Paracasei* Against *Staphylococcus aureus* And *Escherichia coli*. *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.E14641>
- Shehabeldine, A. M., Doghish, A. S., El-Dakrouy, W. A., Hassanin, M. M. H., Al-Askar, A. A., Abdelgawad, H., & Hashem, A. H. (2023). Antimicrobial, Antibiofilm, And Anticancer Activities Of *Syzygium Aromaticum* Essential Oil Nanoemulsion. *Molecules*, 28(15). <https://doi.org/10.3390/molecules28155812>
- Singh, A., Prakash, P., Achra, A., Singh, G., Das, A., & Singh, R. (2017). Standardization And Classification Of In Vitro Biofilm Formation By Clinical Isolates Of *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Global Infectious Diseases*, 9(3), 93–101. https://doi.org/10.4103/Jgid.Jgid_91_16
- Suhendar, U., & Sogandi, S. (2019a). Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Sebagai Inhibitor *Streptococcus Mutans*. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 12(2), 229–239. <https://doi.org/10.15408/Kauniah.V12i2.12251>
- Suhendar, U., & Sogandi, S. (2019b). Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Sebagai Inhibitor *Streptococcus Mutans*. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 12(2), 229–239. <https://doi.org/10.15408/Kauniah.V12i2.12251>
- Tivani, I., Amananti, W., & Putri, R. A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstrak Daun Turi (*Sesbania Grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 7(1), 86–91.
- Ulanowska, M., & Olas, B. (2021). Biological Properties And Prospects For The Application Of Eugenol. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>
- Wahyuni, N. A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap *Klebsiella Pneumoniae* Secara In Vitro, Skripsi, Prodi Pendidikan Dokter Uin Malang.
- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2018). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik Pada Media Nutrient Broth Dan Carboxy Methyl Cellulose. *Jurnal Sains Dan Seni*, 7(2).
- Wardaniati, I., & Gusmawarni, V. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Propolis Terhadap *Streptococcus Mutans*. *Jurnal Farmasi Higea*, 13(2).
- Wari Rahman, I., Nurul Fadlilah, R. R., Nova Kristiana, H., & Dirga, A. (2022). Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Serratia Marcescens*. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 13(1), 14–22. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2>
- Zarah, S. Z., Ketut Wiradnyani, N., & Wayan Nursini, N. (2022). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Terpadu*, 22–26.