

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF A COMBINATION OF BLACK TINES (*Nigella sativa* L.) AND CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) LEAVES EXTRACTS AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Tria Agustina^{1*}, Ismi Rahmawati¹, Fitri Kurniasari¹

¹ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

*Korespondensi: triagustinnnnnn@gmail.com

Submitted : July 29, 2025

Revised : August 22, 2025

Accepted : November 12, 2025

ABSTRAK

Pseudomonas secara intrinsik resisten terhadap antimikroba dan dapat mengembangkan resistensi selama kemoterapi *antipseudomonal* yang keduanya membahayakan pengobatan infeksi. Biji jintan hitam mengandung *thymoquinone* yang telah terbukti menghambat *Pseudomonas*, sementara daun cengkeh kaya eugenol yang memiliki aktivitas antibakteri signifikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol biji jintan hitam dan daun cengkeh terhadap *Pseudomonas*, serta mengidentifikasi kombinasi tersebut menghasilkan efek sinergis atau antagonis.

Penelitian ini menggunakan metode *True Experimental Design* dengan metode uji difusi cakram dan pita kertas. Uji dilusi digunakan untuk menetapkan nilai KHM dan KBM berdasarkan perbandingan yang paling efektif dalam membunuh bakteri dengan seri pengenceran mulai dari konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Uji difusi dengan kertas cakram menggunakan perbandingan antara (1:1); (1:2); (2:1). Aktivitas antibakteri kombinasi dilakukan uji pola interaksi menggunakan metode pita kertas. Analisis data menggunakan SPSS dengan nilai signifikansi ($p > 0,05$).

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tidak dapat ditentukan nilai KHM karena ekstrak berwarna gelap. Ekstrak biji jintan hitam memiliki KBM 50% dan daun cengkeh memiliki KBM 50%. Hasil uji difusi pada ekstrak tunggal biji jintan hitam memiliki diameter 20 mm dan daun cengkeh 17,7 mm. Kombinasi (1:1) memiliki diameter daya hambat 14,43 mm, kombinasi (1:2) 17,1 mm dan kombinasi (2:1) 20,43 mm. Aktivitas antibakteri kombinasi biji jintan hitam dan daun cengkeh yang efektif adalah perbandingan (2:1). Pada uji pita kertas hasil yang didapatkan adalah bersifat sinergis.

Kata kunci : *Nigella sativa* L., *Syzygium aromaticum*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

ABSTRACT

Pseudomonas is intrinsically resistant to antimicrobials and can develop resistance during *antipseudomonal* chemotherapy, both of which jeopardize the treatment of infections. Black cumin seeds contain thymoquinone, which has been shown to inhibit *Pseudomonas*, while clove leaves are rich in eugenol, which has significant antibacterial activity. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of the combination of ethanol extracts from black cumin seeds and clove leaves against *Pseudomonas*, as well as to identify whether the combination produces a synergistic or antagonistic effect.

This research was used True Experimental Design methods with the disk diffusion method and paper strip method. The dilution test is used to determine the MBC and MIC values based on the most effective comparison in killing bacteria with dilution series starting from concentrations of 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.12%; 1.56%; 0.78%; 0.39%; 0.19%; 0.09%. The diffusion test with paper disks uses ratios of (1:1); (1:2); (2:1). Antibacterial activity of combinations is tested using interaction pattern methods with paper strips. Data analysis was performed using SPSS with a significant value ($p > 0.05$).

Research shows that the extract cannot determine the KHM due to the dark color of the extract. The black cumin seed extract has a KBM of 50% and the clove leaf extract also has a KBM of 50%. The results of the diffusion test on the single black cumin seed extract shows a diameter of 20 mm and the clove leaf showed 17.7 mm. The combination (1:1) had an inhibition diameter of 14.43 mm, the combination (1:2) had 17.1 mm, and the combination (2:1) had 20.43 mm. The effective antibacterial activity of the combination of black cumin seeds and clove leaves is at the ratio of (2:1). In the paper strip test, the results obtained are synergistic.

Keywords : *Nigella sativa* L., *Syzygium aromaticum*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

PENDAHULUAN

Infeksi mikroorganisme, seperti bakteri yang diatasi dengan antibiotik, menjadi penyumbang utama masalah kesehatan di Indonesia, namun penggunaannya yang berlebihan memicu isu global resistensi antibiotik, termasuk pada bakteri multidrug *Pseudomonas aeruginosa*. Kondisi ini mendorong pencarian alternatif pengobatan dari bahan alam, di mana biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antibakteri yang kuat melalui senyawa seperti *thymoquinone* dan *eugenol*, sehingga potensi kombinasi kedua ekstrak ini menarik untuk diteliti lebih lanjut sebagai upaya mengatasi resistensi bakteri (Radji, 2011).

Kandungan biji jintan hitam berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian Nazimuddin dkk., (2021), ekstrak etanol biji jintan hitam yang diperoleh menggunakan metode maserasi dengan lima variasi konsentrasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat paling besar pada konsentrasi 15% dengan zona hambat 12,8 mm pada *Klebsiella pneumoniae* dan 15,6 mm pada *P. aeruginosa*. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram untuk menguji efektivitas ekstrak biji jintan hitam dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut. Pada senyawa *eugenol* memiliki aktivitas antibakteri dalam daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Ekstrak etanol daun cengkeh mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan hambat sebesar 16,07 mm pada bakteri *E. coli* dan 16,73 mm pada bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 1% (Ramadhani dkk., 2020).

Berdasarkan penelitian oleh Ramadhani dkk., (2020), penggunaan antibiotik dalam penanganan infeksi telah memicu munculnya bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Kondisi ini menekankan pentingnya upaya pencarian alternatif sumber antibakteri yang baru. Daun cengkeh merupakan salah satu bahan alami yang berpotensi dimanfaatkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang terdapat dalam daun cengkeh serta mengevaluasi kemampuan antibakterinya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Dewi & Astuti, 2023). Berdasarkan pernyataan tersebut, maka dilakukan penelitian kombinasi ekstrak etanol dari biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mempunyai efek antibakteri *P. aeruginosa*. Adanya kombinasi pada penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat apabila dikombinasikan akan memiliki efek yang bersifat sinergis.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian pada penelitian ini menggunakan *True Experimental Design* yang dilakukan laboratorium mikrobiologi Jurusan Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Alat

Alat yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah botol maserasi, timbangan analitik, *rotary evaporator*, corong, gelas ukur, kertas saring, kain flanel, batang pengaduk, *beaker glass*, inkubator, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, jarum Ose, pinset, mikropipet, lampu spiritus, vortex, inkas, cakram kosong steril, cakram antibiotik ciprofloxacin steril, kapas steril, blender, ayakan no. 60, oven, cawan penguap, spatel, pipet kapiler, chamber.

Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah ekstrak biji jintan hitam, ekstrak daun cengkeh, etanol 96%, hydrogen peroxide, larutan Mayer, cakram disk antibiotik, larutan *Dragendorff*, larutan FeCl_3 , asam asetat pekat (CH_3COOH), aquadest, asam sulfat pekat (H_2SO_4), asam klorida pekat (HCl), serbuk magnesium, *amyl alcohol*, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, NaCl 0,9%, *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), media nutrient agar (NA), ciprofloxacin, *safranin*, lugol, mayer, asam asetat anhidrat ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$), *Mc. Farland* 0,5, *Nutrient Broth* (NB), *Burchard*, media *Klinger Iron Agar* (KIA), media *Sulfide Indole Agar* (SIM), media *Lysine Iron Agar* (LIA), media Citrat.

Prosedur Kerja

Pembuatan Serbuk Biji Jintan Hitam Dan Daun Cengkeh

Biji jintan hitam dan daun cengkeh dilakukan pencucian dengan air mengalir, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C , dan dihaluskan menggunakan mesin giling. Selanjutnya serbuk diayak menggunakan ayakan mesh no 60. Hasil serbuk dimasukkan ke dalam wadah yang kering dan tidak lembab untuk selanjutnya dipakai dalam proses penelitian (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Uji Susut Pengeringan Serbuk Biji Jintan Hitam Dan Daun Cengkeh

Penetapan susut pengeringan masing-masing serbuk daun biji jintan hitam dan daun cengkeh dilakukan dengan metode *gravimetri*. Sampel serbuk biji jintan dan daun cengkeh sebanyak 1-2 gram ditimbang pada wadah yang telah ditara, kemudian dikeringkan dengan oven dengan suhu pada 105°C selama 60 menit dan ditimbang hingga didapatkan bobot yang konstan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Pembuatan Ekstrak Biji Jintan Hitam dan Daun Cengkeh

Sampel sebanyak 700 gram masing-masing serbuk jintan hitam dan daun cengkeh ditimbang dan dicampur dengan 7 liter etanol 96%. Proses maserasi berlangsung selama 24 jam dalam wadah tertutup yang gelap dan terlindung dari cahaya, dengan pengadukan setiap 6 jam. Ulangi prosedur ekstraksi dengan pelarut yang sama dan setengah volume prosedur ekstraksi dengan pelarut yang sama dan setengah volume pelarut untuk ekstraksi pertama, selama 24 jam, penggojogan dilakukan setiap 6 jam sekali dalam kondisi tertutup menggunakan wadah gelap agar terhindar dari paparan cahaya. Hasil maserat dipusatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan diletakkan diatas *water bath* hingga diperoleh ekstrak yang kental (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Uji Kadar Air Ekstrak Biji Jintan Hitam dan Daun Cengkeh

Pengujian kadar air dalam penelitian ini dengan cara *gravimetri*. Ekstrak masing-masing ditimbang 10 gram memasukkan sampel ke dalam wadah yang telah ditara sebelumnya, kemudian langkah selanjutnya keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan lakukan penimbangan. Proses pengeringan dan penimbangan dilanjutkan setiap satu jam sekali hingga selisih berat antara dua penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,25%, 0,5 mg atau 0,0005 gram (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Skrining Fitokimia

Uji flavonoid

Larutkan 0,5 gr ekstrak masing-masing sampel ke dalam 100 ml air lalu dipanaskan selama 5 menit, larutan hasil disaring dan filtratnya dipindahkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, tambahkan serbuk magnesium secukupnya, 1 ml asam klorida, serta 1 ml amil alkohol ke dalam tabung tersebut. Campuran kemudian dikocok dengan kuat dan dibiarkan mengendap hingga memisahkan lapisan. Terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan hasil positif keberadaan flavonoid (Sarker dkk., 2006).

Uji alkaloid

Larutkan 0,5 gr ekstrak masing-masing sampel ke dalam 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air, panaskan selama 2 menit kemudian disaring ke dalam tabung reaksi. Filtrat dimasukkan 2 tabung reaksi dengan volume setiap tabung 3 ml, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Burchard dan Meyer. Kehadiran alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning saat menggunakan pereaksi Mayer, serta endapan berwarna coklat hingga hitam ketika menggunakan pereaksi *Burchard* (Tiwari dkk., 2011).

Uji tanin

Larutkan 0,5 gr ekstrak masing-masing sampel ditambah aquadest, setelah itu dipanaskan diamkan 3 menit lalu. Kemudian 1 ml larutan dipindahkan ke tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan $FeCl_3$. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Tiwari dkk., 2011).

Uji saponin

Setelah larutan dingin kocok campuran tersebut dengan kuat selama 10 detik. Jika sampel yang diuji berbentuk cair, dilakukan pengenceran 1 ml sampel ke dalam 10 ml air, lalu dikocok dengan keras selama 10 menit. Reaksinya positif jika busa padat yang terbentuk, bertahan setidaknya selama 30 detik dan tingginya 1 cm hingga 10 cm, lalu ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N busa tebal tidak hilang (Tiwari dkk., 2011).

Uji triterpenoid/steroid

Larutkan 0,5 gr ekstrak masing-masing sampel dengan 2 ml kloroform, kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat. Selanjutnya, 3 tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4) diteteskan perlahan melalui dinding tabung reaksi. Terbentuknya cincin berwarna coklat tua atau ungu di batas antara kedua pelarut mengindikasikan keberadaan terpenoid, sedangkan munculnya warna hijau menunjukkan hasil positif untuk steroid (Hutagalung dkk., 2025).

Sterilisasi Alat

Media agar terlebih dahulu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm, karena uap panas tersebut efektif untuk proses sterilisasi media. Sedangkan alat-alat seperti gelas ukur disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 60 menit. Alat-alat kecil seperti jarum ose disterilkan dengan cara dipanaskan menggunakan api. Untuk inkubator, sterilisasi dilakukan dengan menggunakan formalin (Fauziah, 2024).

Peremajaan Bakteri

Bakteri uji disapukan ke permukaan media NA miring dengan menggunakan jarum ose, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Tunny dkk., 2024).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri uji difusi, pertama diambil 2-3 ose biakan murni bakteri *P. aeruginosa* dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) yang telah disterilkan menggunakan autoklaf. Selanjutnya, kekeruhan suspensi bakteri disesuaikan dengan standar larutan *MC Farland* 0,5, yang setara dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Penyesuaian ini bertujuan agar konsentrasi bakteri yang digunakan seragam sepanjang penelitian dan untuk mengontrol kepadatan bakteri saat pengujian dilakukan (Muchtaromah dkk., 2019).

Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Uji pewarnaan gram

Satu ose bakteri diambil dan dioleskan pada kaca objek. Kaca tersebut ditetesi dengan larutan Gram A (Kristal violet) selama 1 menit, setelah itu dibilas dengan air. Selanjutnya, ditambahkan larutan Gram B (lugol's iodine) selama 1 menit, lalu dibilas kembali. Proses dilanjutkan dengan penambahan larutan Gram C (etanol 70%) selama 1 menit untuk proses dekolorisasi, kemudian dibilas. Terakhir, tetesi dengan larutan Gram D (safranin) selama 1 menit dan dibilas. Setelah pewarnaan selesai, preparat dicuci, dikeringkan dengan cara diletakkan miring di udara ruang, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran tinggi dan menggunakan minyak imersi untuk mendapatkan hasil pengamatan yang jelas (Purwaningsih & Destik, 2020).

Uji *Klinger Iron Agar* (KIA), *Sulfide Indole Agar* (SIM), *Lysine Iron Agar*, CITRAT

Media SIM. Metode identifikasi dilakukan dengan menumbuhkan bakteri melalui inokulasi tusuk pada media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji sulfida menunjukkan hasil negatif (-) pada *P. aeruginosa* ATCC 27853, ditandai dengan tidak adanya warna hitam pada media. Uji indol juga memberikan hasil negatif (-), dimana tidak terbentuk warna merah pada permukaan media setelah penambahan reagen *Erlich*. Sedangkan uji motilitas menunjukkan hasil positif (+), terlihat dari pertumbuhan bakteri yang menyebar pada media (Suherman, 2022).

Media KIA. Identifikasi dilakukan dengan menumbuhkan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 melalui inokulasi tusuk dan goresan pada media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tujuan dari identifikasi ini adalah untuk mengetahui fermentasi karbohidrat serta keberadaan sulfida. Hasilnya menunjukkan K/KS- untuk *P. aeruginosa* ATCC 27853, di mana bagian lereng dan dasar media berwarna merah (dinyatakan sebagai K), serta uji sulfida negatif (S-) ditandai dengan tidak adanya warna hitam pada media (Purwaningsih & Wulandari, 2021).

Media LIA. Identifikasi dilakukan dengan menanam bakteri menggunakan teknik inokulasi gores pada media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengujian untuk *P. aeruginosa* ATCC 27853 menunjukkan K/KS-, di mana bagian lereng media berwarna ungu (ditandai dengan K), bagian dasar media juga berwarna ungu (ditandai K), dan uji sulfida negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S-) (Purwaningsih & Wulandari, 2021).

Uji Citrat. Bakteri diinokulasi ke dalam media menggunakan metode tusukan dan goresan, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri mampu menggunakan citrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Hasil uji dinyatakan positif apabila media berubah warna menjadi biru (Purwaningsih & Wulandari, 2021).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak metode dilusi

Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dilakukan menggunakan metode dilusi tabung dengan media *Brain Heart Infusion* (BHI). Sebanyak 12 tabung reaksi steril disiapkan dengan pembagian sebagai berikut: tabung pertama sebagai kontrol negatif (2 ml ekstrak tanpa bakteri), tabung ke-2 sebagai kontrol positif (2 ml suspensi bakteri *P. aeruginosa* dalam BHI), serta tabung ke-3 hingga ke-11 untuk pengenceran berseri. Prosedur pengenceran dimulai dengan memasukkan 2 ml ekstrak pada tabung kedua, kemudian 1 ml larutan dari tabung tersebut dipindahkan secara berurutan hingga tabung ke-11 untuk memperoleh rentang konsentrasi 50% hingga 0,09%. Sebanyak 1 ml volume akhir dari tabung ke-11 dibuang untuk menyamakan volume seluruh tabung uji. Selanjutnya, ke dalam tabung ke-2 hingga ke-11 ditambahkan 1 ml suspensi bakteri, sehingga total volume masing-masing tabung menjadi 2 ml. Seluruh tabung diinkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C untuk pengamatan kekeruhan (KHM). Penentuan KBM dilakukan dengan menginokulasikan sampel dari tabung yang menunjukkan kejernihan ke media selektif *Pseudomonas Cetrinide Agar* (PSA). Media tersebut kemudian diinkubasi

kembali pada suhu 37°C selama 24–48 jam. Keberadaan atau ketiadaan pertumbuhan koloni *P. aeruginosa* pada permukaan media digunakan untuk menetapkan nilai KBM (Nazimuddin dkk., 2021).

Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Menggunakan Metode Difusi Cakram

Uji difusi dilakukan dengan menginokulasikan suspensi bakteri ke permukaan media MHA secara merata menggunakan kapas lidi steril. Media dibiarkan selama 10 menit pada suhu ruang. Kertas cakram (diameter 6 mm) yang telah diresapi antimikroba ditempatkan di atas media secara aseptis. Pengujian menggunakan kombinasi ekstrak etanol biji jintan hitam dan daun cengkeh dengan perbandingan 50%:50%; 50%:100%; dan 100%:50%. Selain itu, digunakan juga ekstrak tunggal biji jintan hitam, ekstrak tunggal daun cengkeh, ciprofloxacin sebagai kontrol positif, serta larutan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Seluruh media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antimikroba ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat (mm) di sekitar kertas cakram. Wilayah bebas pertumbuhan bakteri menunjukkan adanya kandungan kimia dalam biji jintan hitam dan daun cengkeh yang menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* (Reapinam, 2007).

Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Menggunakan Metode Pita Kertas

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan media MHA yang telah memadat. Suspensi bakteri 0,5 *MC Farland* diinokulasikan ke media MHA dalam waktu 10 menit. Pita kertas steril (0,5x3 cm/kertas whatman no 1) ditetesi dengan 50 µL ekstrak etanol biji jintan hitam dan daun cengkeh pada konsentrasi ekstrak paling efektif. Pita kertas diletakkan secara aseptis di atas media dengan posisi saling tegak lurus, dimana salah satu ujungnya saling tumpang tindih pada satu titik hingga membentuk pola huruf “L”. Pita kertas selanjutnya inkubasi dengan suhu ruangan selama 1 jam lalu inkubasi dengan suhu 37° C selama 24 jam. Efek kombinasi ditentukan dari pola hambat (daerah benning) pertumbuhan mikroba (Sari, 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang dipanen di Batu, Kota Malang, Jawa Timur, digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian ini. Setelah dipanen, biji jintan hitam dan daun cengkeh dibersihkan menggunakan air mengalir sampai bersih, ditiriskan sampai kering, selanjutnya dikeringkan menggunakan oven kemudian dilakukan pengeringan menggunakan suhu 40°C, dan diperoleh simplisia biji jintan hitam sebanyak 1.250 gram dan daun cengkeh sebanyak 1200 gram. Berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, (2017), susut pengeringan adalah pengurangan berat bahan setelah dikeringkan dengan cara yang telah ditetapkan. Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk menentukan nilai maksimum terkait jumlah senyawa yang mungkin hilang selama proses pengeringan. Pengujian susut pengeringan serbuk biji jintan hitam dan daun cengkeh dilakukan dengan metode gravimetri. Hasil dari serbuk biji jintan sebesar 4,23%, sesuai dengan syarat yang telah ditentukan yaitu tidak boleh lebih dari 5,7% dan serbuk daun cengkeh mendapatkan hasil sebesar 7,51%, sesuai dengan syarat yang telah ditentukan yaitu tidak boleh lebih dari 10%.

Simplisia yang dihasilkan selanjutnya ke tahap ekstraksi atau menarik zat aktif dari bahan uji biji jintan hitam dan daun cengkeh, yaitu dengan metode maserasi. Maserasi merupakan tahapan pengestrakan simplisia memakai pelarut yang dilakukan menggunakan pengadukan beberapa kali. Maserasi berfungsi guna menarik zat-zat berkhasiat yang kandungannya resisten terhadap pemanasan, karena bahan yang digunakan memiliki tekstur lunak, dalam proses maserasi tekstur yang lunak tidak masuk ke dalam syarat dalam proses maserasi, namun tekstur yang lunak akan mempermudah proses maserasi (Nisa, 2024). Simplisia dimasukkan pada bejana maserasi, dicampurkan pelarut hingga seluruh simplisia terendam memakai solven berupa etanol 96%, dibiarkan dalam waktu 24 jam, selanjutnya filtrat disaring juga dilakukan hal serupa hingga diperoleh cairan penyaringnya tidak berwarna lagi. Pelarut yang dipakai dalam penelitian ini merupakan pelarut etanol 96% dikarenakan pelarut tersebut merupakan pelarut yang biasanya dipakai pada cara maserasi yang bersifat universal serta zat aktif yang diperlukan mampu tertarik sempurna. Pelarut etanol juga mampu melarutkan hampir seluruh senyawa organik yang mempunyai sifat polar serta semi polar (Asri dkk., 2025).

Selanjutnya ekstrak kental 96% diekstraksi menggunakan konsisten *rotary evaporator* yang memakan waktu 3 hari dan dipanaskan di atas water bath diperoleh hasil ekstrak biji jintan hitam sebesar 91 gram dan ekstrak daun cengkeh sebesar 120. Rendemen dari ekstrak biji jintan hitam sebesar 13%, sesuai dengan syarat yang telah ditentukan yaitu tidak boleh kurang dari 8,9% dan ekstrak daun cengkeh sebesar 17%, tidak sesuai dengan syarat yang telah ditentukan yaitu tidak kurang dari 28%. Kadar air merupakan faktor penting dalam menentukan kualitas bahan, semakin rendah nilai kadar air pada simplisia dan ekstrak, maka semakin kecil kemungkinan bahan tersebut terkontaminasi dengan pertumbuhan mikroba, oleh karena itu kualitas

mutu dan kondisi bahan aktif pada ekstrak biji jintan hitam dapat terjaga dalam jangka waktu yang panjang. Hasil uji kadar air ekstrak biji jintan hitam sebesar 7,67%, Sedangkan hasil dari uji kadar air ekstrak daun cengkeh sebesar 11,98%. Hasil yang diperoleh dari setiap penelitian dapat berbeda karena disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya tempat pengambilan bahan, bulan pengambilan bahan, dan musim saat panen. Jika kadar air yang terkandung melebihi 10%, hal ini dapat memicu proses enzimatik serta kerusakan yang disebabkan oleh mikroorganisme (Sembiring dkk., 2022).

Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dan Daun Cengkeh (*Syzgium aromaticum*)

Setelah diperoleh ekstrak biji jintan hitam dan daun cengkeh, langkah selanjutnya adalah menganalisis kandungan biji jintan hitam dan daun cengkeh. Skrining fitokimia adalah analisis kualitatif metabolit sekunder. Ekstrak pada bahan alam tersusun dari beberapa jenis metabolit sekunder yang mempunyai peran pada aktivitas biologis. Reagen yang dapat menentukan setiap kategori metabolit sekunder dapat digunakan untuk menentukan senyawa yang membentuk alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Tes flavonoid ditandai dengan adanya warna merah pada lapisan amil alkohol, tanin ditandai dengan larutan hijau kehitaman, saponin ditandai dengan terbentuknya buih, alkaloid pada pereaksi mayer ditandai endapan berwarna putih atau kuning, dan untuk triterpenoid adanya cincin berwarna kecoklatan memberikan hasil positif (Tiware dkk., 2011).

Tabel 1. Hasil Skrining Fotokimia Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dan Daun Cengkeh (*Syzgium aromaticum*)

Senyawa	Hasil			
	Ekstrak Biji Jintan Hitam	Pustaka	Ekstrak Daun Cengkeh	Pustaka
Flavonoid	Warna merah pada lapisan amil alkohol (+)	Terbentuk larutan merah (Tiware dkk., 2011)	Warna merah pada lapisan amil alkohol (+)	Larutan warna kuning, jingga, atau merah (Banu & Cathrine, 2015)
Alkaloid Mayer	Endapan kuning (+)	Endapan berwarna (Tiware dkk., 2011)	Endapan putih (+)	Endapan kuning atau putih (Banu & Cathrine, 2015)
Bourchard	Endapan jingga (+)	Endapan berwarna (Tiware dkk., 2011)	Endapan merah bata (+)	Endapan merah bata, coklat, atau hitam (Banu dan Cathrine, 2015)
Saponin	Busa padat (+)	Terdapat buih yang mantap ditandai dengan buih setinggi 1-10 cm (Tiware dkk., 2011)	Busa padat (+)	Buih stabil (Banu & Cathrine, 2015)
Tanin	Warna hijau kehitaman (+)	Warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan, hijau biru menunjukkan adanya polifenol (Tiware dkk., 2011)	Warna hijau kehitaman (+)	Hijau kehitaman (Banu & Cathrine, 2015)
Triterpenoid	Cincin berwarna kecoklatan (+)	Cincin coklat kemerahan (Tiware dkk., 2011)	Cincin berwarna kecoklatan (+)	Cincin ungu, coklat, atau merah bata (Banu & Cathrine, 2015)

Keterangan : (+) terkandung senyawa metabolit sekunder, (-) tidak terkandung senyawa metabolit sekunder

Pewarnaan Gram Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil pewarnaan Gram terhadap *P. aeruginosa* menunjukkan sel bakteri berwarna merah dan berbentuk batang (bacil). Warna merah pada sel menandakan bahwa bakteri ini tergolong Gram negatif. Perbedaan warna antara bakteri Gram positif dan Gram negatif pada pewarnaan Gram disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel keduanya, di mana dinding sel Gram negatif lebih tipis dan tidak mampu

mempertahankan pewarna kristal violet setelah proses dekolorisasi, sehingga menyerap pewarna safranin dan tampak merah. Bakteri Gram positif ditandai oleh lapisan peptidoglikan yang lebih tebal, sementara bakteri Gram negatif memiliki lapisan fosfolipid luar yang lebih dominan. Saat larutan alkohol (Gram C) diterapkan dalam proses pewarnaan Gram, zat warna pertama (kristal violet) pada bakteri Gram negatif larut karena lapisan fosfolipid tersebut memungkinkan pewarnaan terangkat. Sebaliknya, pada bakteri Gram positif, lapisan peptidoglikan yang tebal mampu mempertahankan kristal violet, sehingga warnanya tidak luntur. Karena warna pertama pada bakteri Gram negatif hilang, bakteri tersebut akan menyerap zat warna kedua (safranin) dan tampak berwarna merah pada hasil akhir pewarnaan (Purwaningsih & Destik, 2020).

Uji SIM, KIA, LIA, dan CITRAT

Tabel 2. Hasil Pengujian SIM, KIA, LIA dan CITRAT

Media	Pustaka	Hasil
SIM	Lereng media sulfida berwarna hitam (-), tidak terdapat cincin indol berwarna merah (-), dan ada bakteri yang menyebar (+), (Muhaimin dkk., 2013)	- - +
KIA	Lereng media berwarna merah (K), bawah berwarna merah (K), dan tidak ada warna hitam (S-) (Muhaimin dkk., 2013)	K/K S-
LIA	Lereng media atas berwarna ungu (K), bawah berwarna ungu (K), dan tidak ada warna hitam (S-) (Muhaimin dkk., 2013)	K/K S-
CITRAT	Terjadi perubahan warna menjadi biru (+)(Muhaimin dkk., 2013)	+

Hasil pengamatan pada media SIM menunjukkan sulfida (-) karena tidak terbentuk warna hitam pada medium *Sulfida Indol Motility* yang artinya *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hidrogen sulfat (HSO₄). Indol (-) karena setelah ditambah reagen *Erlich A* dan *B* diatas media, diamati permukaan media tidak berwarna merah artinya *Pseudomonas aeruginosa* tidak membentuk indol dari tryptophan sebagai sumber karbon, motilitas (+) karena pertumbuhan bakteri yang menyebar pada tusukan. Pengamatan pada medium KIA bagian lereng berwarna merah (K) yang artinya bakteri tidak memfermentasi glukosa dan laktosa, bagian dasar berwarna merah (K), dan sulfida (-) karena tidak menghasilkan warna hitam. Tabung yang berisi medium LIA diperoleh hasil bagian lereng media berwarna ungu (K), bagian dasar berwarna ungu (K), dan sulfida (-) karena *Pseudomonas aeruginosa* tidak mampu mendeaminasi lisin dan tidak menghasilkan H₂S. Tabung yang berisi medium sitrat positif berwarna biru, artinya *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan Sitrat sebagai sumber tunggal. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa*.

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dapat dinilai berdasarkan kekeruhan yang muncul pada tabung reaksi, kemudian kultur dari tabung tersebut digoreskan pada media agar untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Selanjutnya, penggoresan dilakukan pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA) untuk mengamati Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), karena pada uji dilusi menggunakan ekstrak, hasil di dalam tabung sering kali sulit terlihat. Metode dilusi ini sangat berguna untuk mengetahui dosis minimal suatu zat yang memiliki efek antibakteri. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat diidentifikasi dengan menginokulasikan sampel dari tabung uji ke dalam media PSA pada cawan petri steril, lalu mengamati pertumbuhan bakteri. Hasil dari Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang didapatkan, kemudian yang akan digunakan untuk mengkombinasikan pengujian ekstrak biji jintan hitam dan daun cengkeh dengan menggunakan metode difusi cakram dengan perbandingan kombinasi (1:1); (1:2) dan (2:1) dengan konsentrasi yang telah didapatkan dari hasil uji KBM pada uji dilusi.

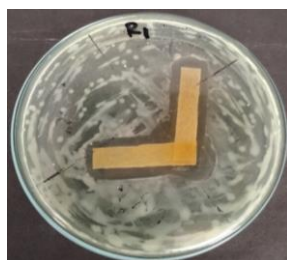
Tabel 3. Uji Kombinasi Ekstrak Biji Jintan Hitam dan Daun Cengkeh Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian	Diameter (mm)			Rata-rata±SD	Kategori
	I	II	III		
K+	22,60	21,00	20,60	21,40±1,05	Sangat kuat
K-	0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	Lemah
BJ	19,00	23,00	18,00	20,00±2,64	Kuat
DC	18,00	20,30	15,00	17,70±2,65	Kuat
BJ+DC 1:1	14,00	15,30	14,00	14,43±0,75	Kuat
BJ+DC 1:2	16,00	20,30	15,00	17,10±2,81	Kuat
BJ+DC 2:1	20,00	22,30	19,00	20,43±1,69	Sangat kuat

Keterangan : K+ : Ciprofloxacin; K- : Larutan DMSO 10%; BJ 50%: Ekstrak biji jintan hitam tunggal 50%; DC 50%: Ekstrak daun cengkeh tunggal 50; BJ + DC (1:1): Kombinasi ekstrak biji jintan hitam 50% + ekstrak daun

cengkeh 50%; BJ + DC (1:2) : Kombinasi ekstrak biji jintan hitam 50% + ekstrak daun cengkeh 100%;
BJ + DC (2:1) : Kombinasi ekstrak biji jintan hitam 100% + ekstrak daun cengkeh 50%

Pada pengujian ini digunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif digunakan sebagai pembandingan terhadap aktivitas antibakteri dari ekstrak yang akan diujikan. Digunakan antibiotik ini karena antibiotik adalah senyawa antibakteri yang dibuat standar (Reapinam, 2007). Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik Ciprofloxacin $5\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon yang digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853. Mekanisme kerja dari antibiotik ini yaitu dengan cara menghambat DNA gyrase dan topoisomerase IV yang keduanya merupakan enzim yang sangat berperan dalam replikasi DNA bakteri. Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan DMSO 10%. (Hermawati dkk., 2023).



Gambar 2. Hasil Uji Pita Kertas

Hasil pengujian pola kombinasi ekstrak menunjukkan bahwa pita kertas yang direndam dalam ekstrak biji jintan hitam dan daun cengkeh, menghasilkan zona hambat yang melebar antara pita kertas yang saling tumpang tindih pada sudut 90° . Hal ini dibuktikan dengan adanya diameter yang lebih besar antara pita yang saling tumpang tindih pada sudut 90° dibandingkan dengan pita kertas tunggal ekstrak biji jintan hitam dan daun cengkeh. Pola zona hambat yang melebar tersebut menunjukkan adanya efek sinergis antara kombinasi kedua ekstrak. Efek sinergis dapat disebabkan oleh kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan terpenoid yang bekerja saling menguatkan aktivitas satu sama lain untuk mengganggu dinding sel atau metabolisme bakteri (Niswah dkk., 2023).

Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak biji jintan hitam, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, dan minyak atsiri, diketahui memiliki sifat antibakteri. Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik, yang diduga mekanismenya dengan mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Suatu substansi yang dapat mendenaturasi protein dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi (*irreversible*) sehingga pertumbuhan mikroba terganggu (Salsabila dkk., 2025). Senyawa alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian bakteri (Sadiah dkk., 2022). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri ialah dapat menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat melisis dinding bakteri. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri ialah berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) (Naim, 2004). Triterpenoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk ikatan dengan protein yang berada di luar dinding sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan pada dinding sel (Meilawati dkk., 2022).

Ekstrak daun cengkeh mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri antara lain flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, dan minyak atsiri. Mekanisme kerja minyak atsiri sebagai antibakteri adalah merusak dinding dan membran sel bakteri menyebabkan kematian sel (Xu dkk., 2016). Pada saat senyawa kompleks terbentuk dan berikatan dengan protein ekstraseluler bakteri maka akan menyebabkan membran sitoplasma rusak dan senyawa intraseluler bakteri keluar sehingga flavonoid menjadi agen antibakteri. Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan cara toksisitas dari tanin merusak membran sel bakteri dan senyawa astringent dari tanin menginduksi pembentukan kompleks tanin sehingga menambah kekuatan dari toksisitas tanin. Komponen peptidoglikan penyusun sel bakteri kerjanya diganggu sehingga sel dari bakteri mengalami kematian akibat gagal terbentuk secara sempurna, hal tersebut merupakan mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri (Yuniza, 2021). Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein, karena sifat dari saponin seperti deterjen maka menyebabkan turunnya tegangan permukaan dinding sel dan mengubah permeabilitas membran bakteri (Sudarni dkk., 2017). Ikatan polimer yang kuat merusak protein trans membran luar dinding sel bakteri, hal ini merupakan mekanisme kerja triterpenoid sebagai antibakteri (Yuniza, 2021).

Senyawa metabolit dari ekstrak biji jintan hitam dan daun cengkeh memberikan efek sinergisme dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* yang memiliki mekanisme kerja yang saling mendukung sehingga memberikan efek yang lebih kuat dibandingkan efek tunggal dari tanaman tersebut. Kemampuan aktivitas antibakteri dari ekstrak biji jintan hitam terhadap bakteri *P. aeruginosa* diduga karena kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan tanin (Damayanti, 2024). Ekstrak daun cengkeh memiliki kemampuan aktivitas antibakteri diduga disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* (Zabina, 2025). Selain dari senyawa tersebut juga terdapat banyak senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri yang saling bekerja sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* (Irianto, 2022).

KESIMPULAN

Penelitian ini memberikan hasil bahwa ekstrak biji jintan hitam dan daun cengkeh mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas*, dengan daya hambat terhadap *Pseudomonas* pada ekstrak biji jintan hitam sebesar 20 mm, ekstrak daun cengkeh sebesar 17,7 mm, kombinasi ekstrak biji jintan dan daun cengkeh dengan perbandingan 1:1 sebesar 14,43 mm, perbandingan 1:2 sebesar 17,1 mm, perbandingan 2:1 sebesar 20,43 mm, kontrol positif sebesar 21,4 mm serta kontrol negatif tidak 0 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak pada pita kertas dengan perbandingan 2:1 memberikan hasil yang sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

DAFTAR PUSTAKA

- Asri, M. P., Rachmawaty, D., Abdullah, T., & Ratnah, S. 2025. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Pepaya Muda (*Carica Papaya L.*) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Streptococcus Pyogenes*. *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*.1-8.
- Banu, N., & Cathrine, L. 2015. Qualitative Analysis Of Inorganic Compounds: Identification Based On Color Reactions. *Journal Of Chemical Education*. 92(4):678–683. <https://doi.org/10.1021/Ed500123a>.
- Damayanti, N. N. S. 2024. Pengujian Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Cengkeh (*Syzygium Aromaticum (L.) Merr & Perry*) Dan Antibiotik Ciprofloxacin Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus (Mrsa)*. *Doctoral Dissertation*. Denpasar: Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati.
- Dewi, G. A. S. C., & Astuti, N. M. W. 2023. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Sebagai Sediaan Pasta Gigi. In *Prosiding Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi*. 2: 403-415.
- Fauziah, H. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Kratom (*Mitragyna Speciosa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Secara In-Vitro. *Doctoral Dissertation*. Kalimantan Selatan:Fakultas Kedokteran, Kesehatan, dan Ilmu Kehidupan Universitas Borneo Lestari.
- Hermawati, A. H., Surtini, S., Arohman, A. Y. L., & Hariyanto, H. 2023. Uji Antibiotik Ciprofloxacin Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Jurnal Insan Cendekia*.10(3):181-188.
- Hutagalung, S. R. C., Yuniarti, R., Dalimunthe, G. I., & Lubis, M. S. 2025. Formulasi, Evaluasi Dan Penentuan Nilai Spf Serta Uji Kelembaban Perona Pipi Stik Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine Bulbosa (Mill.) Urb.*) *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*.1066-1081.
- Irianto, I. D. K. 2022. *Senyawa Alam Sebagai Antibakteri Dan Mekanisme Aksinya*. Yogyakarta:UGM Press.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Meilawati, Z., Shita, A. D. P., Prasetya, R. C., Dharmayanti, A. W. S., Firdiansyah, R. T. A., & Dewanti, D. A. 2022. Uji Antibakteri Ekstrak Daun Singkong (*Manihot Esculenta Crantz*) Terhadap *Fusobacterium Nucleatum* Dan *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*. 34(3):185.
- Muhaimin, A., Nurul, H., & Sari, D. 2013. Identifikasi Dan Karakterisasi Bakteri Berdasarkan Uji Biokimia Pada Media Diferensial. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 8(2):101–108. <https://doi.org/10.14203/Jmi.V8i2.233>.
- Muchtaromah, B., Hayati, A., dan Agustina, E., 2019. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Acorus calamus L.* Extracts. *Jurnal Biodjati*.
- Nazimuddin, C, L., G, C. N., & G, E. 2021. Effectiveness Test Of Black Cumin Seeds (*Nigella Sativa*) Extract On The Growth Of *Klebsiella Pneumoniae* And *Pseudomonas Aeruginosa* Bacteria. *Journal Biologi Lingkungan, Industri Dan Kesehatan*.7 (2).

- Naim, R. 2004. Senyawa Antimikroba Dari Tumbuhan. *Skripsi*. Bogor:Fakultas Kedokteran Hewan Dan Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Nisa, E. C. 2024. Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* (L.) Lm Perry) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Diploma thesis*. Lampung: Fakultas Farmasi Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, Lampung.
- Niswah, S. U., Indrayati, A., & Sari, G. N. F. 2023. Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* Dc) Dan Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Atcc 27853 Dengan Metode Pita Kertas. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*.27(3): 110-118. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*.27(3): 110-118.
- Purwaningsih, D., & Wulandari, D. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia Esculenta* L) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*: Potential Of Antibacterial Compound Fermentation Of Endophytic Bacteria From Taro Tuber (*Colocasia Esculenta* L.) Againts. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. 3(5):750-759.
- Purwaningsih, & Destik. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia Pellucida* L. Kunth) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Atcc 27853. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*.5(1): 1-7.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi Dan Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Ramadhani, S, S., & Sogandi. 2020. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*.7(2).
- Reapinam, E. 2007. Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Kayu Mesoyi (*Cryptocarya Massoia*) Terhadap Bakteri Patogen Dan Pembusuk Makanan. *Skripsi*. Bogor:Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Sadih, H. H., Cahyadi, A. I., & Windria, S. 2022. Kajian Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*. 40(2):128-138.
- Salsabila, M. K., Rukaya, B. E., & Syuhada, S. 2025. Evaluasi Aktivitas Antibakteri Minyak Jintan Hitam Terhadap Bakteri Gram-Positif Dan Gram-Negatif: Studi Pada *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*. 13(1):218-226.
- Sari, D. 2022. Sintesis Hand Sanitizer Menggunakan Serai Dan Cengkeh Pada Suhu Ekstrim Dan Pengaruh Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Doctoral Dissertation*. Universitas Medan Area, Medan.
- Sarker, S. D., Zahid, L., & Alexander, I. G. 2006. *Natural Product Isolation*. New Jersey: Humana Press
- Sembiring, B. S. B., Fanani, M. Z., & Jumiono, A. 2022. Pengaruh Teknologi Pengeringan Terhadap Mutu *Simplisia Seledri*. *Jurnal Ilmiah Pangan Halal*. 4(2):1-6.
- Sudarni, K. L. G., Darmayasa, & Muksin. 2017. Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium Cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Atcc. *Jurnal Simbiosis V*. (2): 47-51.
- Suherman, D. P. 2022. Uji Viabilitas Dan Pengamatan Morfologi Liofilisat Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Yang Disimpan Selama Dua Bulan Pada Suhu-20°C. *Doctoral Dissertation*. Yogyakarta:Prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes.
- Tiwari, Kumar, M, K., G, K., & H, K. 2011. Phytochemical Screening And Extraction: A Revise. *Internasionale Pharmaceutical Scientia*. 1(1).
- Tunny, R., Dusra, E., Sillehu, S., Malisngorar, M. S., & Muges, A. 2024. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea Decumana*) Asal Desa Waisala Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Riset Rumpun Ilmu Kedokteran*. 3(1):01-08.
- Xu, J. G., Liu, T., Hu, Q. P., & Cao, X. M. 2016. Chemical Composition Antibacterial Properties And Mechanism Of Action Of Essential Oil From Clove Buds Against *Pseudomonas Aeruginosa*. *Molecules*. 21(1194): 1-13.
- Yuniza. 2021. *Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Streptococcus Mutans Atcc 25175 Dari Sediaan Obat Kumur Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (Syzygium Aromaticum L. Merr.)*. *Skripsi*. Surakarta:Universitas Setia Budi.
- Zabina S. N. 2025. Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Deodorant Lotion Minyak Atsiri Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Atcc-12228. *Doctoral Dissertation*. Sulawesi Selatan: Universitas Muhammadiyah Palopo.