

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI BEBERAPA EKSTRAK TANAMAN
TERHADAP *Escherichia coli* RESISTEN ANTIBIOTIK**

*ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SEVERAL PLANT EXTRACTS AGAINST ANTIBIOTIC
RESISTANT *Escherichia coli**

Ratna Yuliani, Muhammad Nur Prasetyo, Sternatami Liberitera

Fakultas Farmasi

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A. Yani Tromol Pos I, Pabelan, Kartasura, Surakarta 57102

*Email: ratna.yuliani@ums.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri beberapa ekstrak tanaman dan mengidentifikasi senyawa aktif antibakteri terhadap *Escherichia coli* resisten antibiotik. Rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*), biji pala (*Myristica fragrans*), kayu secang (*Caesalpinia sappan*), bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*), umbi bawang putih (*Allium sativum*), daun pepaya (*Carica papaya*), daun sirih (*Piper betle*), daun kemangi (*Ocimum sanctum*), kulit biji jambu mete (*Anacardium occidentale*), dan daun jambu mete diekstraksi menggunakan penyari etanol 96% dengan metode maserasi. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dilakukan dengan metode difusi disk. Kromatografi lapis tipis dan bioautografi dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan adanya zona hambat di sekitar disk yang mengandung ekstrak. Hal ini mengindikasikan bahwa semua ekstrak mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* resisten antibiotik. Ekstrak bunga cengkeh mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi dengan senyawa aktif eugenol. Ekstrak bunga cengkeh berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri untuk melawan *E. coli* resisten antibiotik.

Kata Kunci : antibakteri, *Escherichia coli*, ekstrak, resisten

ABSTRACT

*This research aimed to investigate antibacterial activity of several plant extracts and identify active antibacterial compound against antibiotic resistant *Escherichia coli*. Galangal (*Alpinia galanga*), nutmeg (*Myristica fragrans*), sappan wood (*Caesalpinia sappan*), clove (*Syzygium aromaticum*), garlic (*Allium sativum*), pawpaw leaves (*Carica papaya*), betle leaves (*Piper betle*), holy basil leaves (*Ocimum sanctum*), cashew nut shell (*Anacardium occidentale*) and cashew leaves were soaked in 96% ethanol to extract the compounds. Antibacterial activity of the extracts was tested using disc diffusion method. Thin layer chromatography and contact bioautography were done to identify active antibacterial compounds. The results of antibacterial activity test showed that all extracts capable of inhibiting bacterial growth. These are indicated by inhibition zone around disc containing extracts. Clove extract has the highest antibacterial activity with eugenol as the active compound. Clove extract has potency to be developed as antibacterial agent against antibiotic resistant *E. coli*.*

PENDAHULUAN

Paparan mikroorganisme oleh obat-obat antimikroba dapat merubah mikroorganisme tersebut sehingga mikroorganisme menjadi resisten terhadap antimikroba. Hal tersebut menyebabkan obat-obat menjadi tidak aktif. Munculnya mekanisme resistensi baru dan penyebarannya mengancam pengobatan penyakit infeksi sehingga pasien menderita penyakit dalam waktu yang lebih lama dan dapat menyebabkan kematian. Operasi, pengobatan diabetes, kemoterapi kanker, transplantasi organ menjadi berisiko tinggi tanpa adanya antimikroba yang efektif untuk mencegah dan mengobati infeksi. Resistensi terhadap antimikroba terjadi secara alami, biasanya melalui perubahan genetik. Tetapi penyalahgunaan antimikroba dan penggunaan antimikroba secara berlebihan meningkatkan

proses terjadinya resistensi. Mikroba yang resisten terhadap antimikroba dapat ditemukan pada manusia, hewan, makanan, dan lingkungan (udara, tanah, dan air). Mikroba-mikroba tersebut dapat menyebar antara manusia dan hewan termasuk dari makanan yang berasal dari hewan dan dari manusia ke manusia. Kontrol infeksi yang rendah, kondisi sanitasi yang buruk, penyiapan makanan yang kurang baik dapat mempercepat penyebaran resistensi (WHO, 2018).

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri yang paling banyak dilaporkan resistensinya terhadap antibiotik (WHO, 2018). Di Amerika, resistensi *E. coli* terhadap beberapa golongan antibiotik (*multidrug resistance*) meningkat dari 7,2% pada tahun 1950an menjadi 63,6% pada tahun 2000an (Tadesse *et al.*, 2012). Peningkatan prevalensi resistensi *E. coli* terhadap antibiotik juga terjadi di Eropa antara tahun 2012 sampai 2016. Resistensi *E. coli* terhadap sefalosporin generasi ke-3 meningkat dari 6,9% menjadi 10,5% sedangkan resistensi terhadap fluorokuinolon meningkat dari 22,22% menjadi 24,5% (Struyf & Mertens, 2017). Biakan *E. coli* yang diperiksa di Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur menunjukkan resistensi terhadap beberapa golongan antibiotik diantaranya sefalosporin generasi ke-3 (7,1%-48,8%), kuinolon (45,5%-66,7%), aminoglikosida dan polimiksin (11,6%-100%), dan penisilin (67,6%-100%) (Hilda & Berliana, 2015). Pada tahun 2030, prevalensi *E. coli* yang resisten terhadap sefalosporin generasi ke-3 dan karbapenem diperkirakan berturut-turut mencapai 77% dan 11,8%. Pada tahun tersebut sefalosporin generasi ke-3 dan karbapenem kemungkinan tidak efektif untuk mengobati sebagian besar penyakit infeksi yang disebabkan oleh *E. coli* di seluruh dunia. Oleh karena itu penemuan antibiotik baru untuk melawan *Enterobacteriaceae* resisten sangat diprioritaskan (Alvarez-Uria *et al.*, 2018).

Penelitian-penelitian bahan alam menunjukkan kemajuan yang signifikan dalam penemuan senyawa baru yang mempunyai aktivitas antimikroba. Tanaman merupakan salah satu sumber senyawa alam dengan aktivitas antimikroba dan masih banyak tanaman belum dieksplorasi yang kemungkinan mengandung senyawa penuntun antimikroba dan obat baru (Hayashi *et al.*, 2013). Banyak ekstrak tanaman yang sudah diujikan dan mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* sensitif antibiotik diantaranya daun jambu mete (*Anacardium occidentale*) (Chabi *et al.*, 2014), umbi bawang putih (*Allium sativum*) (Mohammed, 2013; Jadon dan Dixit, 2014), kulit biji jambu mete (Doss dan Thangavel, 2011), daun pepaya (*Carica papaya*) (Aruljothi *et al.*, 2014), rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) (Sunilson *et al.*, 2009), biji pala (*Myristica fragrans*) (Ibrahim *et al.*, 2013), bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) (Pandey dan Singh, 2011), daun sirih (*Piper betle*) (Khan dan Kumar, 2011), kayu secang (*Caesalpinia sappan*) (Mohan *et al.*, 2011), dan daun kemangi (*Ocimum sanctum*) (Karumari *et al.*, 2014; Bhatt *et al.*, 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji sepuluh ekstrak tanaman terhadap *E. coli* resisten antibiotik dan mengetahui senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak yang paling poten.

METODE

Alat:

Almari pengering, *rotary evaporator* (Heidolph), penangas air (Memmert), neraca analitik (Adventurer), vorteks (Thermolyne Corporation), mikropipet (Socorex), oven (Memmert), autoklaf (Hirayama), *incubator shaker* (New Brunswick), inkubator (Memmert), *Laminar Air Flow* (LAF) (CV. Srikandi Laboratory), dan alat-alat gelas (Pyrex).

Bahan:

E. coli, daun pepaya (dari Desa Banyudono, Boyolali), daun kemangi dan umbi bawang putih (dari Pasar Kleco, Surakarta), daun dan kulit biji jambu mete (dari Wonogiri), kayu secang, rimpang lengkuas, bunga cengkeh, biji pala, dan daun sirih (dari Pasar Gede, Surakarta), etanol 70%, etanol 96%, DMSO (dimetil sulfoksida), media Brain Heart Infusion (BHI), akuades, media Mueller Hinton (MH), larutan salin steril, lempeng silika gel GF 254, etil asetat p.a., dan toluen p.a.

Jalannya penelitian

Ekstraksi

Serbuk simplisia sebanyak kurang lebih 100 gram direndam dalam 1 L etanol 96% selama 3 hari pada suhu ruang dan sesekali diaduk. Maserat disaring dan penyari diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan larutan ekstrak 10%

Seratus miligram ekstrak kayu secang dan daun kemangi dilarutkan dalam 1 mL etanol 96%. Ekstrak daun jambu mete, umbi bawang, kulit biji mete, daun pepaya, rimpang lengkuas, biji pala, bunga cengkeh, daun sirih sebanyak 100 mg dilarutkan dalam DMSO.

Uji sensitivitas bakteri

Suspensi bakteri *E. coli* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL sebanyak 150 μ L diinokulasi pada media agar Mueller Hinton. Disk antibiotik seftazidim (30 μ g), sefotaksim (30 μ g), dan sefadroksil (30 μ g) diletakkan di atas media yang telah ditanami bakteri. Kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sensitivitas bakteri terhadap antibiotik ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar disk.

Uji aktivitas antibakteri

Larutan ekstrak 10% sebanyak 10 μ L ditetaskan ke dalam disk kosong sehingga setiap disk mengandung 1 mg ekstrak. Etanol 96% dan DMSO sebanyak 10 μ L ditetaskan ke dalam disk kosong sebagai kontrol pelarut. Disk yang mengandung ekstrak dan pelarut diletakkan di atas media agar Mueller Hinton yang telah ditanami bakteri *E. coli* konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL sebanyak 150 μ L. Media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri ekstrak ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar disk.

Kromatografi lapis tipis (KLT)

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak paling aktif (ekstrak bunga cengkeh) dipisahkan dan diidentifikasi dengan metode KLT. Larutan ekstrak dan standard eugenol ditotolkan pada plat silika gel GF254 lalu dielusi menggunakan fase gerak campuran toluen dan etil asetat dengan perbandingan 93:7. Bercak pada plat silika gel GF254 diamati di bawah lampu UV 254 nm dan UV 366 nm. Plat disemprot vanillin-asam sulfat lalu dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit di dalam oven. Bercak-bercak pada plat diamati di bawah sinar tampak. Nilai Rf masing-masing bercak dihitung.

Bioautografi

Senyawa-senyawa dalam ekstrak bunga cengkeh dipisahkan dengan metode KLT. Suspensi *E. coli* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL sebanyak 150 μ L ditanam pada media agar Mueller Hinton. Plat silika yang sudah dielusi ditempelkan di atas media tersebut selama 20 menit. Plat diambil kemudian kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya zona bening pada media menandakan bahwa bercak mempunyai aktivitas antibakteri. Nilai Rf zona bening dihitung dan identitas senyawa pada Rf tersebut ditentukan dari hasil KLT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sensitivitas *E. coli* terhadap antibiotik perlu diuji untuk memastikan bahwa bakteri yang akan digunakan untuk uji telah bersifat resisten. Hasil uji menunjukkan adanya zona hambat di sekitar disk antibiotik tetapi diameternya masuk kategori bakteri telah resisten (Tabel 1). Dalam penelitian ini, *E. coli* yang digunakan untuk uji telah resisten terhadap tiga antibiotik golongan sefalosporin yaitu sefadroksil (generasi 1), sefotaksim (generasi 3), dan seftazidim (generasi 3). Resistensi *E. coli* terhadap sefalosporin dapat disebabkan oleh produksi *extended-spectrum β -lactamase* (ESBL) oleh bakteri tersebut (Thenmozhi *et al.*, 2014).

Strain bakteri yang menghasilkan ESBL sudah resisten terhadap semua penisilin, sefalosporin (termasuk generasi ke-3 dan ke-4), dan aztreonam. Bakteri tersebut juga dapat mengalami resistensi silang terhadap trimetoprim/sulfametoksazol dan kuinolon. Kombinasi sifat-sifat tersebut dapat mempengaruhi perkembangan dan akibat infeksi secara signifikan, baik di masyarakat maupun di rumah sakit (Picozzi *et al.*, 2014). Pada tahun 2030, resistensi *E. coli* terhadap sefalosporin generasi

ke-3 diperkirakan mencapai 77% (Alvarez-Uria *et al.*, 2018). Jika perkiraan tersebut benar-benar terjadi, pengobatan infeksi menjadi lebih sulit.

Tabel 1. Hasil uji sensitivitas *E. coli* terhadap antibiotik. *E. coli* telah resisten terhadap sefadroksil, sefotaksim, dan seftazidim.

Antibiotik	Hasil Uji	
	Diameter zona hambat (mm)	Sifat bakteri
Sefadroksil 30 µg	6,5*	Resisten
Sefotaksim 30 µg	7*	Resisten
Seftazidim 30 µg	12,5**	Resisten

Keterangan:

Diameter zona hambat termasuk diameter disk antibiotik (6 mm)

* : zona hambat masih ditumbuhi beberapa koloni bakteri

** : zona hambat tanpa pertumbuhan bakteri

Munculnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik menyebabkan dampak yang luas di bidang kesehatan. Resistensi *E. coli* terhadap sefalosporin generasi ke-3 dengan proporsi yang tinggi menyebabkan pengobatan infeksi bakteri tersebut membutuhkan antibiotik lain seperti karbapenem. Hal ini mengakibatkan biaya pengobatan lebih tinggi dan dapat merangsang munculnya strain bakteri yang resisten terhadap karbapenem. Akibat lanjutannya, infeksi yang disebabkan oleh strain yang resisten terhadap karbapenem harus diobati dengan *last-resort drugs* seperti tigesiklin atau kolistin (Adesoji *et al.*, 2016). Ternyata *E. coli* yang membawa gen *mcr-1* telah ditemukan di Amerika Serikat. Gen tersebut menyebabkan bakteri resisten terhadap kolistin yang merupakan antibiotik pilihan terakhir untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri resisten (Centers for Disease Control and Prevention, 2016). Oleh karena itu strategi untuk menemukan antibiotik baru untuk melawan bakteri resisten harus segera diambil. Salah satu strategi tersebut adalah eksplorasi metabolit sekunder dari tanaman.

Pada penelitian ini, sepuluh ekstrak tanaman diuji aktivitas antibakterinya terhadap *E. coli* resisten. Hasil uji menunjukkan terbentuknya zona hambat di sekitar disk yang mengandung ekstrak. Zona hambat mempunyai diameter yang berbeda dan berupa zona radikal atau iradikal (Tabel 2). Hal ini mengindikasikan bahwa semua ekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji dengan potensi yang tidak sama. Semua ekstrak kecuali ekstrak bunga cengkeh menghasilkan zona hambat iradikal yang berarti ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak dapat membunuhnya. Hanya ekstrak bunga cengkeh yang mampu membunuh bakteri uji dan mempunyai aktivitas antibakteri paling tinggi di antara ekstrak yang diujikan. Aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh terhadap *E. coli* juga dilaporkan oleh Pandey & Singh (2011) dengan diameter zona hambat sebesar 18 mm. Perbedaan diameter zona hambat pada kedua penelitian kemungkinan disebabkan oleh perbedaan sifat bakteri uji. Pada penelitian ini, bakteri uji yang digunakan telah bersifat resisten sehingga zona hambat yang dihasilkan berdiameter lebih kecil.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri sepuluh ekstrak tanaman terhadap *E. coli* resisten

No	Ekstrak	Rata-rata diameter zona hambat ± SD (mm)	
		Ekstrak (1 mg)	Kontrol pelarut (DMSO/Etanol) (10 µl)
1	Daun jambu mete	10,75 ± 1,77	
2	Umbi bawang putih	7,5 ± 0,71	7 ± 0
3	Kulit biji mete	7,5 ± 0,71	

4	Daun pepaya	7,25 ± 0,35	
5	Rimpang lengkuas	9 ± 1,41	6 ± 0
6	Biji pala	10,75 ± 1,77	
7	Bunga cengkeh	8 ± 0*	8 ± 0
8	Daun sirih	8 ± 1,41	
9	Kayu secang	14,5 ± 0,71	6 ± 0 ^E
10	Daun kemangi	6,75 ± 0,35	

Keterangan:

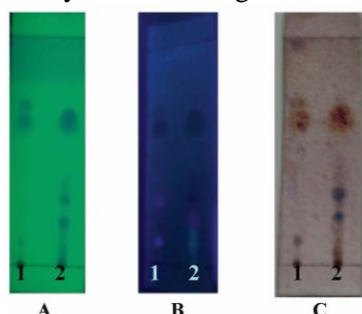
Diameter zona hambat termasuk diameter disk (6 mm)

Semua zona hambat masih ditumbuhi beberapa koloni bakteri kecuali ekstrak bunga cengkeh.

* : zona hambat tanpa pertumbuhan bakteri

E : etanol 96%

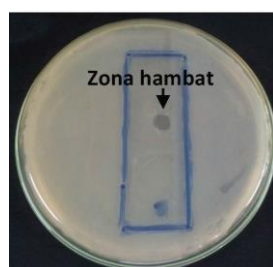
Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa-senyawa yang terkandung di dalam ekstrak bunga cengkeh. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga cengkeh mengandung senyawa eugenol pada Rf 0,6 dan 2 senyawa lain pada Rf 0,1 dan 0,3 (Gambar 1). Eugenol pada cengkeh mempunyai beberapa aktivitas farmakologi seperti anestetik, analgetik, antioksidan, antiinflamasi (Prمود *et al.*, 2010), dan antibakteri (El-Baky & Hashem, 2016). Hasil analisis *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga cengkeh mengandung 19 senyawa dan eugenol merupakan senyawa terbanyak (54,88%). Senyawa lain di dalam ekstrak tersebut antara lain eugenil asetat, 1,2,3-benzotriol, dan kariofilen (Hemalatha *et al.*, 2016). Perbedaan banyaknya senyawa dalam ekstrak etanol dan metanol bunga cengkeh kemungkinan besar disebabkan oleh metode pemisahan yang digunakan. Metode GC-MS dapat memisahkan lebih banyak senyawa dibandingkan KLT.



Gambar 1. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol bunga cengkeh. Lempong diamati di bawah sinar UV254 nm (A), 366 nm (B), dan sinar tampak setelah disemprot vanilin-asam sulfat (C). 1: ekstrak etanol bunga cengkeh, 2: standard eugenol. Ekstrak bunga cengkeh mengandung eugenol.

Bioautografi dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif antibakteri di dalam ekstrak bunga cengkeh. Hasil bioautografi menunjukkan adanya satu zona bening pada kultur *E. coli* yang sebelumnya ditempel pada silika hasil KLT ekstrak bunga cengkeh (Gambar 2). Hal ini mengindikasikan terhambatnya pertumbuhan bakteri pada daerah tersebut. Jika dilihat dari hasil KLT, zona bening tersebut cocok dengan nilai Rf eugenol yaitu 0,6. Hal ini menunjukkan bahwa eugenol mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak bunga cengkeh yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* resisten antibiotik adalah eugenol. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian lain yang menyatakan bahwa eugenol mempunyai aktivitas antibakteri. Eugenol mampu menghambat pertumbuhan dan membunuh *E. coli* dengan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) sebesar 1600 mg/L

(Pei *et al.*, 2009). Eugenol juga mempunyai efek antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dengan KHM sebesar 0,0125% dan KBM sebesar 0,025% (Devi *et al.*, 2010).



Gambar 2. Hasil bioautografi ekstrak etanol bunga cengkeh terhadap *E. coli* resisten antibiotik. Eugenol menghambat pertumbuhan *E. coli* sehingga membentuk zona hambat.

Eugenol mempunyai beberapa mekanisme aksi sebagai antibakteri. Eugenol dapat merusak *envelope* sel bakteri dan melisiskan sel sehingga menyebabkan kematian bakteri (Bennis *et al.*, 2004). Hal ini dikuatkan oleh Oyedemi *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa sifat hidrofobik eugenol memungkinkan senyawa tersebut mempartisi lipid membran sel bakteri sehingga mengganggu struktur sel dan menyebabkan membran lebih permeabel. Hal ini mengakibatkan keluarnya protein dari dalam sel. El-Baky dan Hashem (2016) mengungkapkan bahwa eugenol menyebabkan lisis dan kelainan bentuk sel, menghambat produksi enzim beta laktamase dan aktivitas urease, dan melemahkan pergerakan bakteri.

KESIMPULAN

Ekstrak bunga cengkeh mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *E. coli* resisten dan senyawa aktif antibakterinya adalah eugenol.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesoji, A. T., Onuh, J. P., & Okunye, O. L. (2016). Bacteria resistance to cephalosporin and its implication to public health. *Journal of Bacteriology and Mycology*, 3(1), 01-06.
- Alvarez-Uria, G., Gandra, S., Mandal, S., & Laxminarayan, R. (2018). Global forecast of antimicrobial resistance in invasive isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Infectious Diseases*, 68, 50-53.
- Aruljothi, S., Uma, C., Sivagurunathan, P., & Bhuvaneshwari, M. (2014). Investigation on antibacterial activity of *Carica papaya* leaf extracts against wound infection-causing bacteria. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 2(11), 8-12.
- Bennis, S., Chami, F., Chami, N., Rhayour, K., Tantaoui-Elaraki, & Remmal, A. (2004). Eugenol induces damage of bacterial dan fungal envelope. *Moroccan Journal of Biology*, 1, 33-39.
- Bhatt, M. K., Shankar, M. B., Saluja, A. K., Dholwani, K. K., & Captain, A. D. (2012). Evaluation of anti-microbial activity of *Ocimum sanctum* methanolic extract. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 1(4), 39-41.
- Centers for Diseases Control and Prevention. (2016). Discovery of first mcr-1 gen in *E. coli* bacteria found in human in United States. Diunduh dari: <https://www.cdc.gov/media/releases/2016/s0531-mcr-1.html> pada 21 Agustus 2018.
- Chabi, S. K., Sina, H., Adoukonou-Sagbadja, H., Ahoton, L. E., Roko, G. O., Saidou, A., Adeoti, K., Ahanchede, A., & Baba-Moussa, L. (2014). Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* L. leaves and barks extracts on pathogenic bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 8(25), 2458-2467.

- Devi, K. P., Nisha, S. A., Sakhitel, R., & Pandian, S. K. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the celluler membrane. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(1), 107-115.
- Doss, V. A. & Thangavel, K. P. (2011). Antioxidant and antimicrobial activity using different extract of *Anacardium occidentale* L. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(3), 436-443.
- El-Baky, R. M. A. dan Hashem, Z. S., 2016, Eugenol and linalool: comparison of their antibacterial and antifungal activities. *African Journal of Microbiology Research*, 10(44), 1860-1872.
- Hayashi, M. A., Bizerra, F. C., & Da Silva Jr, P. I. (2013). Antimicrobial compounds from natural sources. *Frontiers in Microbiology*, 4(195), 1.
- Hemalatha, R., Nivetha, P., Mohanapriya, C., Sharmila, G., Muthukumaran, C., & Gopinath, M. (2016). Phytochemical composition, GC-MS analysis, in vitro antioxidant and antibacterial potential of clove flower bud (*Eugenia caryophyllus*) methanolic extract. *Journal of Food Science and Technology*, 5(2), 1189-1198.
- Hilda & Berliana. (2015). Pola resistensi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* terhadap berbagai antibiotik. *Jurnal Mahakam Husada*, IV(1), 1-7.
- Ibrahim, K. M., Naem., R. K., dan Abd-Sahib, A. S. (2013). Antibacterial activity of nutmeg (*Myristica fragrans*) seed extracts against some pathogenic bacteria. *Journal of Al-Nahrain University*, 16(2), 188-192.
- Jadon, R. & Dixit, S. (2014). Phytochemical extraction and antimicrobial activity of some medicinal plants on different microbial strains. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 2(3), 58-63.
- Karumari, J. R., Vijayalakshmi, K., Tamilarasi, L., & Balasubramanian, E. (2014). Antibacterial activity of leaf extracts of *Aloe vera*, *Ocimum sanctum* and *Sesbania grandiflora* against the Gram positive bacteria. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 04(35), 60-63.
- Khan, J. A. & Kumar, N. (2011). Evaluation of antibacterial properties of extracts of *Piper betel* leaf. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 11(11), 1-3.
- Mohammed, K. S. (2013). Antibacterial activity of *Allium sativum* (garlic) and identification of active compound by GC-MS Analysis. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(4), 1071-1076.
- Mohan, G., Anand, S. P., & Doss, A. (2011). Efficacy of aqueous and methanol extracts of *Caesalpinia sappan* L. and *Mimosa pudica* L. for Their Potential Antimicrobial Activity. *South Asian Journal of Biological Sciences*, 1(2), 48-57.
- Oyedemi, S. O., Okoh, A. I., Mabinya, L. V., Pirochenva, G. & Afolayan, A. J. (2009). The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, α -terpineol and γ -terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. *African Journal of Biotechnology*, 8(7), 1280-1286.
- Pandey, A. & Singh, P. (2011). Antibacterial Activity of *Syzygium aromaticum* (Clove) with Metal Ion Effect against Food Borne Pathogens. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1(2), 69-80.
- Picozzi, S. C. M., Casellato, S., Rossini, M., Paola, G., Tejada, M., Costa, E., & Carmignani, L. (2014). Extended-spectrum beta-lactamase-positive *Escherichia coli* causing complicated upper urinary tract infection: Urologist should act in time. *Urology Annals*, 6(2), 107-112.
- Pramod, K., Ansari S. H., & Ali, J. (2010). Eugenol: a natural compound with versatile pharmacological actions. *Natural Product Communications*, 5(12), 1999-2006.
- Struyf, T., & Mertens, K. (2017). European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net Belgium) Report. Diunduh dari http://www.nsih.be/download/2017_EARS_NationalReport_Belgium.pdf tanggal 7 Agustus 2018.
- Sunilson, J. A. J., Suraj, R., Rejitha, G., Anandarajagopal, K., Kumari, A. V. A. G., & Promwichit, P. (2009). *In vitro* antimicrobial evaluation of *Zingiber officinale*, *Curcuma longa*, and *Alpinia*

- galanga* extract as natural food preservatives. *American Journal of Food Technology*, 4(5), 192-200.
- Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. J., & McDermott, P. F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerging Infectious Diseases*, 18(5), 741-749.
- Thenmozhi, S., Moorthy, K., Sureshkumar, B T., & Suresh, M. (2014). Antibiotic resistance mechanism of ESBL producing Enterobacteriaceae in clinical field: A review. *International Journal of Pure & Applied Science*, 2(3), 207-226.
- WHO. (2018). Antimicrobial resistance. Diunduh dari <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> tanggal 14 Juli 2018.
- WHO. (2018). High levels of antibiotic resistance found worldwide, new data shows. Diunduh dari <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/en/> tanggal 7 Agustus 2018.