



UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA SENYAWA HASIL REAKSI HIDRASI KARIOFILENA PADA ESCHERICHIA COLI DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Abdullah Kamal*), Sudarmin, dan Achmad Binadja

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Agustus 2012
Disetujui September 2012
Dipublikasikan Oktober 2012

Kata kunci:
turunan β -kariofilena
antibakteri
reaksi hidrasi

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa turunan β -kariofilena hasil reaksi hidrasi β -kariofilena dalam pelarut diklorometana. Selain itu, untuk mengetahui pengaruh senyawa turunan kariofilena hasil reaksi hidrasi β -kariofilena pada pertumbuhan mikroba *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. Penelitian diawali dengan mensintesis senyawa turunan β -kariofilena dari senyawa β -kariofilena dengan menggunakan reaksi hidrasi dalam suasana asam. Analisis senyawa turunan β -kariofilena dengan menggunakan IR dan Kromatografi Gas (GC). Selanjutnya sifat antibakteri senyawa turunan β -kariofilena tersebut diuji terhadap bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. Dari hasil penelitian didapat bahwa senyawa turunan β -kariofilena hasil reaksi hidrasi β -kariofilena dalam pelarut diklorometana adalah senyawa kariofilena alkohol. Pengaruh senyawa turunan β -kariofilena hasil reaksi hidrasi β -kariofilena pada pertumbuhan mikroba *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus* adalah semakin besar konsentrasi dan semakin lama di inkubasi maka semakin besar daya hambat yang dimiliki senyawa kariofilena alkohol terhadap tumbuhnya bakteri tersebut sampai batas maksimum yang telah diteliti adalah dengan konsentrasi 75% dan lama inkubasi 48 jam. Daya antimikroba pada kariofilena alkohol terhadap bakteri *Escherichia Coli* 1,3 cm dan bakteri *Staphylococcus Aureus* 1,5 cm.

Abstract

This study aims to determine the β -derived compounds of kariofilena by hydration reaction of β -kariofilena in dichloromethane solvent. In addition, to determine the effect of derivative compounds kariofilena β -hydration reactions result in microbial growth kariofilena *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus*. The study begins by synthesizing a compound derived from compounds kariofilena β -kariofilena by using the hydration reaction under acidic conditions. Analysis of β -kariofilena derived compounds using IR and gas chromatography (GC). Further antibacterial properties of β -kariofilena derived compounds were tested against the bacteria *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus*. From the results obtained that β -derived compounds kariofilena the hydration reaction of β -kariofilena in dichloromethane solvent is a compound kariofilena alcohol. Effect of β -derived compounds kariofilena the hydration reaction of β -kariofilena on microbial growth and *Escherichia Coli* *Staphylococcus Aureus* is a greater concentration and the longer the incubation, the greater the inhibition of a compound owned alcohol kariofilena against bacterial growth until the maximum limit has been investigated is with a concentration of 75% and the long incubation period of 48 hours. Kariofilena alcohol on the antimicrobial against bacteria *Escherichia Coli* 1.3 cm and 1.5 cm bacterium *Staphylococcus aureus*.

© 2012 Universitas Negeri Semarang

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara penghasil minyak atsiri yang cukup terkenal di dunia. Salah satu dari minyak atsiri tersebut berupa minyak cengkeh. Penggunaan minyak cengkeh di dalam negeri masih sangat terbatas sebagai obat sakit gigi dan masih merupakan komoditas ekspor dalam bentuk bahan mentah dengan harga yang relatif rendah. Minyak cengkeh mengandung dua komponen utama yaitu senyawa eugenol yang merupakan kandungan yang paling besar yaitu 80-90% dan senyawa β -kariofilena yaitu 10-20% (Kusumaningsih, T. 2004).

Pemanfaatan terhadap senyawa β -kariofilena masih belum banyak dilakukan, hal ini dapat dilihat dengan melimpahnya produk senyawa β -kariofilena di PT. Indesso Aroma Purwokerto sebagai hasil samping produksi senyawa eugenol yang masih belum dimanfaatkan. Produk senyawa β -kariofilena bila tidak dimanfaatkan secara optimal dari produksi eugenol di PT. Indesso Aroma Purwokerto dapat menjadi limbah.

Dari hasil penelusuran pustaka ditemukan bahwa, kariofilena dan senyawa turunannya mempunyai banyak kegunaan baik sebagai bahan obat maupun parfum. Senyawa turunan kariofilena dapat digunakan sebagai bahan kosmetik (Brunke and Rojahn, 1988), bahan dasar membuat antibiotik (Abraham, et.al., 1990), anti karsinogenik (Zheng, et.al., 1992), anti bakteri karies gigi (Muroi dan Kubo, 1993), anti jerawat (Muroi, et.al., 1993), dan penghambat tumbuhnya tanaman patogen *Botrytis cinerea* (Collado, et.al., 1997).

Dari manfaat senyawa turunan kariofilena di atas, Senyawa kariofilena dicoba untuk disintesis menjadi turunan kariofilena untuk mengurangi limbah dan meningkatkan nilai jual β -kariofilena. Sudarmin (2003) berhasil mensintesis senyawa turunan kariofilena yaitu senyawa kloanadiol dari reaksi hidrasi kariofilena. Sintesis senyawa tersebut dilakukan dalam suasana asam H_2SO_4 dengan pelarut diklorometana dan katalis transfer fasa CTAB.

Berdasarkan penjelasan di atas, maka dalam penelitian ini dilakukan uji aktivitas antimikroba senyawa hasil reaksi hidrasi kariofilena pada *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. Penelitian ini menggunakan bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* karena bakteri *escherichia coli* dalam kehidupan sehari-hari

bisa mengakibatkan penyakit diare dan *staphylococcus aureus* bisa merapuhkan tulang, serta menyebabkan penyakit kulit. Dengan adanya penelitian ini diharapkan untuk mengolah senyawa kariofilena hasil samping eugenol sebagai salah satu alternatif untuk tujuan pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*.

Metode Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: labu alas bulat leher tiga (dilengkapi thermometer, pendingin bola, magnetik stirrer), corong pisah, cawan petri, autoclave, timbangan digital, inkubator, kromatografi kolom, kromatografi gas (GC) dan spektrofotometer infra merah (IR). Bahan-bahan yang digunakan adalah: senyawa β -kariofilena, pelarut diklorometana, larutan H_2SO_4 pekat, katalis transfer fasa CTAB, aseton, Na_2SO_4 anhidrat, aquades. Media yang digunakan dalam pembiakan bakteri adalah media agar (NA) dan media kaldu (NB). Bakteri uji yang digunakan adalah *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*.

Prosedur kerja dalam penelitian ini meliputi penyiapan sampel turunan kariofilena, pemisahan senyawa dengan kromatografi kolom, dan uji antimikroba. Sampel disiapkan dengan mengambil kariofilena 20 mL ditambah diklorometana 40 mL dimasukkan labu alas bulat leher tiga 250 mL (yang dilengkapi thermometer, pendingin bola, magnetik stirrer) dengan suhu kamar, kemudian diaduk selama 10 menit. Campuran tersebut ditetesi dengan 5 mL H_2SO_4 pekat pada suhu kamar, dan dilanjutkan penetesan 30 mL H_2O tetes demi tetes ditambah katalis transfer fasa CTAB sebanyak 0,1 g dalam pelarut 5 mL aseton tetes demi tetes (campuran diaduk selama 30 menit pada temperatur 50-60°C). Hasil hidrasi tersebut dibiarkan dalam corong pisah semalam dan akan didapat 2 lapisan yaitu lapisan atas fasa organik dan lapisan bawah fasa air. Fasa organik jernih disaring kemudian dicuci dengan aquadest, dan dicek pH sampai netral dengan indikator universal. Fasa organik netral tersebut dipisahkan dengan corong pisah dan ditambahkan dengan Na_2SO_4 anhidrat. Fasa organik bebas air disaring kemudian dievaporasi sehingga dihasilkan produk turunan kariofilena hasil reaksi hidrasi.

Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi Kolom dilakukan dengan menimbang silika gel sebanyak 15 gram dipanaskan dalam oven pada

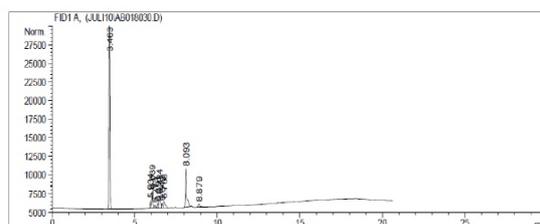
suhu 120°C selama 5 jam. Silika gel tersebut selanjutnya dijadikan bubuk dengan penambahan n-heksana 150 mL, kemudian di masukkan ke dalam gelas kolom panjang 30 cm diameter 2,5 cm. Setelah bubuk silika gel masuk dalam gelas kolom, bubuk silika gel dibiarkan mampat oleh gaya gravitasi, sehingga diperoleh panjang adsorben yang stabil. Sebelum sampel dimasukkan ke dalam gelas kolom, eluen n-heksana di atas adsorben dikeluarkan dengan cara membuka kran. Sampel sebanyak 3 mL diteteskan dipermukaan atas adsorben. Sampel dibiarkan turun sampai batas atas permukaan adsorben dengan cara membuka kran. Kemudian ditambahkan eluen 30 mL n-heksana. Setelah 30 mL n-heksana mengelusi dan memisah senyawa tersebut, dilanjutkan eluen lain yaitu 30 mL metanol dan 30 mL diklorometana. Senyawa pisahan yang diperoleh di tampung dalam tabung reaksi sebanyak 3 mL setiap tabung reaksi. Setelah eluen hasil tampung menguap, selanjutnya senyawa pisahan tersebut di uji antimikroba.

Media nutrisi agar (NA) yang digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri disediakan dengan cara memanaskan NA kembali, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril secara aseptis. Bakteri ditanam pada media NA dengan cara memasukkan 1 mL biakan bakteri hasil pengenceran ke dalam media NA kemudian menggoyangkan seperti angka 8. Paper disk dicelupkan dalam sampel senyawa-senyawa turunan kariofilena pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% selama 20 menit agar sampel tersebut bisa meresap ke dalam paper disk, kemudian diangin-anginkan lalu diletakkan pada media NA yang telah ditanami bakteri. Seluruh cawan petri yang berisi pembenihan bakteri diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar, kemudian setiap rentang waktu 6 jam, 24 jam, 30 jam, dan 48 jam diamati dan diukur luas daerah hambat pertumbuhan bakteri (zona bening) di sekitar paper disk. Langkah terakhir adalah analisis senyawa turunan kariofilen. Senyawa turunan kariofilena yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi Gas (GC) dan di analisis struktur molekul dengan menggunakan spektrofotometri Inframerah (IR).

Hasil dan Pembahasan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa kariofilena yang disintesis melalui reaksi hidrasi dalam suasana asam bertujuan untuk memperoleh senyawa-senyawa

turunan kariofilena yang memiliki daya antimikroba khususnya pada bakteri E. Coli dan S. Aureus. Dalam mensintesis senyawa kariofilena menjadi senyawa turunan kariofilena dengan cara senyawa kariofilena dilarutkan dengan senyawa diklorometana, selanjutnya campuran tersebut dilakukan dalam suasana asam yang ditambah dengan H₂SO₄ pekat dan di lanjutkan dengan menambah H₂O serta katalis transfer fasa CTAB. Hasil reaksi hidrasi tersebut dibiarkan semalam bertujuan untuk memisahkan fasa organik dengan fasa air. Selanjutnya fasa organik dinetralkan pHnya dengan cara menambah air sampai pH fasa organik 7. Fasa organik netral tersebut di tambah Na₂SO₄ anhidrat bertujuan untuk menghilangkan sisa fasa air yang masih menempel di fasa organik. Selanjutnya fasa organik di evaporasi dan dihasilkan produk senyawa-senyawa turunan kariofilena. Kemudian senyawa tersebut dianalisis dengan kromatografi Gas (GC) dan di analisis struktur molekul dengan menggunakan spektrofotometri Inframerah (IR). Hasil analisis senyawa turunan kariofilena dengan kromatografi gas (GC) di tunjukkan oleh kromatogram pada Gambar 1.

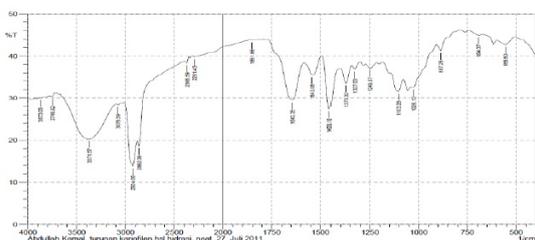


Gambar 1. Kromatogram GC dari senyawa turunan kariofilena

Hasil kromatogram GC pada Gambar 1 menunjukkan adanya 10 puncak. Puncak yang paling tinggi yaitu pelarut senyawa diklorometana. Senyawa turunan kariofilena yang memiliki daya antimikroba terhadap bakteri E. Coli dan S. Aureus diperkirakan puncak yang paling tinggi ke 2 yaitu puncak nomor 9 dengan waktu retensi 8,093 menit dan kelimpahan relatifnya adalah 22,49%. Sedangkan puncak-puncak yang lain dimungkinkan senyawa organik yang lain. Selanjutnya untuk mengetahui struktur senyawa-senyawa turunan kariofilena dianalisis dengan spektrofotometer inframerah (IR). Hasil analisis senyawa turunan kariofilena dengan spektrofotometer inframerah (IR) ditunjukkan oleh spektra pada Gambar 2.

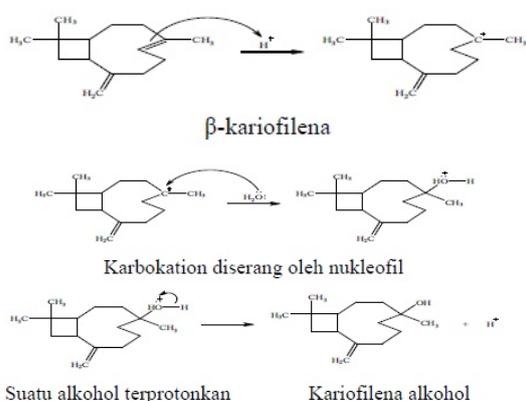
Hasil analisis struktur senyawa turunan kariofilena dari reaksi hidrasi dengan katalis

asam sulfat pekat pelarut diklorometana merupakan turunan senyawa alkohol yang ditandai munculnya serapan gugus fungsional hidroksil (OH) pada panjang gelombang 3400-3448 cm^{-1} dan 1026 cm^{-1} yang karakteristiknya untuk produk senyawa alkohol. Data menarik dari spektra inframerah yaitu masih munculnya dua serapan pada panjang gelombang 1327 cm^{-1} dan 1373 cm^{-1} yang menunjukkan adanya serapan khas pada gugus dimetil di C-11 dari senyawa kariofilena. Hilangnya serapan pada panjang gelombang 3000-3100 cm^{-1} yaitu serapan khas ikatan rangkap dua (gugus ena) yang terletak pada C-4 dari senyawa kariofilena yang menunjukkan terjadinya reaksi adisi oleh ion H^+ dari H_2SO_4 serta masih munculnya serapan pada panjang gelombang 887,26 cm^{-1} menunjukkan masih adanya ikatan rangkap dua (gugus ena) yang terletak pada C-8. Berdasarkan data spektrofotometri inframerah (IR) maka diketahui bahwa pada reaksi hidrasi katalis asam dengan pelarut diklorometana terbentuk senyawa turunan alkohol sebagai senyawa kariofilena alkohol. Ditetapkannya senyawa kariofilena alkohol sebagai hasil reaksi, karena data spektra IR dari penelitian ini hampir sama dengan data spektra IR dari hasil penelitian data Sudarmin (2003).



Gambar 2. Spektra IR senyawa turunan kariofilena hasil reaksi hidrasi

Mekanisme reaksi hidrasi senyawa kariofilena dalam suasana asam sebagai berikut:



Gambar 3. Mekanisme reaksi hidrasi β -kariofilena dalam suasana asam

Produk senyawa turunan kariofilena tersebut selanjutnya di kromotografi kolom, yaitu bertujuan untuk memisahkan senyawa turunan kariofilena yang masih campuran. Dari hasil pemisahan menggunakan kromotografi kolom kemudian senyawa turunan kariofilena yang didapat tersebut diuji antimikroba untuk mencari senyawa-senyawa yang dapat menghambat tumbuhnya bakteri E. Coli dan S. Aureus.

Identifikasi daya antimikroba pada senyawa-senyawa turunan kariofilena dilakukan dengan menentukan luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri Gram negatif dan Gram positif terhadap senyawa-senyawa yang berkonsentrasi 25%, 50 %, dan 75 %. Ketiga penjelasan tersebut dapat dicermati pada Tabel 1, 2, dan 3.

Tabel 1. Luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri Gram negatif dan Gram positif terhadap senyawa-senyawa yang berkonsentrasi 25%

Senyawa dalam pelarut di klorometana	Diameter penghambat (cm)							
	6 jam	24 jam	30 jam	48 jam	6 jam	24 jam	30 jam	48 jam
β -Kariofilena	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena	-	0,7	0,9	0,9	0,8	0,9	0,9	1,0
Turunan kariofilena A	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena B	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena C	-	0,6	0,8	0,9	0,6	0,7	0,9	0,9

Tabel 2. Luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri Gram negatif dan Gram positif terhadap senyawa-senyawa yang berkonsentrasi 50%

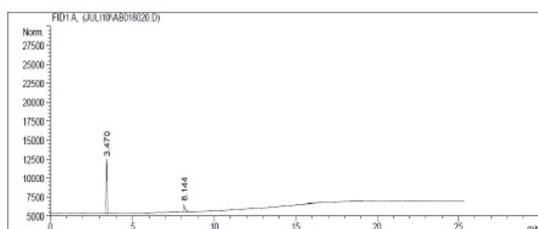
Senyawa dalam pelarut di klorometana	Diameter penghambat (cm)							
	6 jam	24 jam	30 jam	48 jam	6 jam	24 jam	30 jam	48 jam
β -Kariofilena	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena	-	0,7	1,0	1,1	0,8	1,1	1,3	1,4
Turunan kariofilena A	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena B	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena C	-	0,8	0,8	1,0	0,7	0,9	0,9	1,2

Tabel 3. Luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri Gram negatif dan Gram positif terhadap senyawa-senyawa yang berkonsentrasi 75%.

Senyawa dalam pelarut di klorometana	Diameter penghambat (cm)							
	6 jam	24 jam	30 jam	48 jam	6 jam	24 jam	30 jam	48 jam
β -Kariofilena	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena	-	0,9	0,9	1,4	0,9	1,4	1,4	1,8
Turunan kariofilena A	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena B	-	-	-	-	-	-	-	-
Turunan kariofilena C	-	0,9	1,0	1,3	0,9	1,1	1,2	1,5

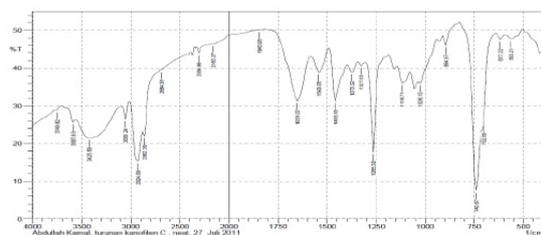
Berdasarkan Tabel 1, Tabel 2, dan Tabel 3, maka dapat diketahui bahwa senyawa yang dapat menghambat tumbuhnya bakteri E. Coli dan S. Aureus adalah senyawa turunan kariofilena yang masih campuran dan senyawa turunan kariofilena pada fraksi C. Dilihat dari tabel tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi senyawa turunan kariofilena dan senyawa turunan kariofilena pada fraksi C maka daya hambat terhadap bakteri semakin besar dan semakin lama proses inkubasi, diameter zona beningnya semakin luas.

Senyawa yang paling efektif menghambat bakteri adalah pada konsentrasi 75% dengan diameter hambat terhadap bakteri paling besar. Senyawa turunan kariofilena dan senyawa turunan kariofilena pada fraksi C yang mempunyai kepekatan paling tinggi berdaya bakteri lebih kuat sehingga mempunyai diameter hambat yang lebih besar, sedangkan senyawa turunan kariofilena dan senyawa turunan kariofilena pada fraksi C yang mempunyai kepekatan paling rendah menunjukkan daya hambat yang kecil. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi kadar dari senyawa bioaktif umumnya bersifat bakterisida (agen mematikan mikroba), sedangkan kadar yang lebih rendah biasanya hanya bersifat bakteriostatik (agen yang menghambat pertumbuhan mikroba, bukan mematikan mikroba) (Volk & Wheeler, 1988).



Gambar 4. Kromatogram GC senyawa turunan kariofilena pada fraksi C

Kromatogram GC menunjukkan adanya 2 puncak. Puncak yang paling tinggi yaitu pelarut senyawa diklorometana. Senyawa turunan kariofilena pada fraksi C yang memiliki daya antimikroba adalah puncak yang ke 2 dengan waktu retensi 8,144 menit dan kelimpahan relatifnya adalah 22,13%. Selanjutnya untuk mengetahui struktur senyawa turunan kariofilena pada fraksi C dianalisis dengan spektrofotometer inframerah (IR). Hasil analisis senyawa turunan kariofilena dengan spektrofotometer inframerah (IR) di tunjukkan oleh spektra pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektra IR senyawa turunan kariofilena pada fraksi C

Hasil analisis struktur dengan menggunakan spektrofotometer IR pada Gambar 5, senyawa turunan kariofilena pada fraksi C merupakan turunan senyawa alkohol

yang ditandai munculnya serapan gugus fungsional hidroksil (OH) pada panjang gelombang 3400-3448 cm^{-1} dan 1026 cm^{-1} yang karakteristiknya untuk produk senyawa alkohol.

Data menarik dari spektra inframerah yaitu masih munculnya serapan khas pada gugus dimetil di C-11 dari senyawa kariofilena pada panjang gelombang 1327 cm^{-1} dan 1373 cm^{-1} yang sama seperti senyawa turunan kariofilena sebelum dipisahkan dengan kromatografi kolom. Hilangnya serapan ikatan rangkap dua (gugus ena) pada panjang gelombang 3000-3100 cm^{-1} yaitu yang terletak pada C-4 dari senyawa kariofilena menunjukkan terjadinya reaksi adisi oleh ion H^+ dari H_2SO_4 . Berdasarkan data spektrofotometer inframerah (IR) pada gambar 16, maka diketahui bahwa pada senyawa turunan kariofilena pada fraksi C sama seperti spektrofotometri inframerah (IR) senyawa turunan kariofilena sebelum dipisahkan adalah senyawa turunan alkohol sebagai senyawa kariofilena alkohol atau nama lainnya 4, 11, 11, -trimetil-8- metilena bisiklo [7,2,0]-unde-4-ol.

Simpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut. Pertama, senyawa utama turunan kariofilena hasil reaksi hidrasi β -kariofilena dalam pelarut diklorometana adalah senyawa kariofilena alkohol. Kedua, pengaruh senyawa turunan kariofilena hasil reaksi hidrasi β -kariofilena pada pertumbuhan mikroba *E. Coli* dan *S. Aureus* adalah semakin besar konsentrasi dan semakin lama diinkubasi maka semakin besar daya hambat yang dimiliki senyawa kariofilena alkohol terhadap tumbuhnya bakteri tersebut. sampai batas maksimum yang telah diteliti adalah dengan konsentrasi 75% dan lama inkubasi 48 jam. Dihasilkan daya antimikroba pada kariofilena alkohol terhadap bakteri *Escherichia Coli* 1,3 cm dan bakteri *Staphylococcus Aureus* 1,5 cm.

Ucapan Terima kasih

Ucapan terima kasih kepada PT. INDESSO AROMA Purwokerto, yang telah membantu dalam penyediaan sampel β -kariofilena.

Daftar Pustaka

- Abraham. 1990. Biotransformation of Caryophyllena by *Diplodia Gosypina*. *Phytochemistry*, 29: 1,115-120
- Brunke, E.J. dan Rojahn, W. 1989. Perfumed Containing Tetrahydro-caryophyllenon. *Chems. Abstr.* 110, 179-895

- Collado, I.G., Hamson, J.R., Hitchcock, dan Maciaz-Sanchez, A.J. 1997. Stereochemistry of Epoxidation of Some Caryophyllena. *J. Org. Chem.*, 62, 1965-1969
- Kusumaningsih, T. 2004. Reaksi Adisi methanol Terhadap β -kariofilena dengan katalis $AlCl_3$. *Alchemy*, Vol. 3, No. 1, Maret 2004: 43-49
- Muroi, H. dan Kubo, I. 1993. Combination Effects of Antibacterial Compounds in Green Tea Flavour Against *Streptococcus Mutans*. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1102-1105
- Sudarmin. 2003. Sintesis Senyawa Turunan Kariofilena Alkohol melalui Reaksi Hidrolisis Kariofilena Katalis Asam Pelarut diklorometana. *Jurnal MIPA*, Agustus 2003, Vol. 26, Nomor 2
- Volk, WA & Wheeler, MF. 1993. *Mikrobiologi Dasar*, Edisi V, Jilid 1, Alih Bahas Oleh Soenartono Adisoemarto. Jakarta: Erlangga
- Zheng, G.Q., Kenney, P.M. dan Lam, L.K.T. 1992. Sesquiterpenes from Clove (*Eugenia Caryophyllata*) as Potential Anticarcinogenic Agents., *Journal of Natural Products*, 55:7, 999-1003