

## **Artikel Penelitian**

---

### **EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BIOFILM *Candida albicans* ATCC 14053**

**Firdausi Nuzula<sup>1</sup>, Masfufatun<sup>2\*</sup>**

Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya<sup>1</sup>

Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya<sup>2\*</sup>

Alamat: Jl. Dukuh Kupang XXV No.54, Dukuh Kupang, Kec. Dukuh Pakis, Surabaya

\*Email: [masfufatun@uwks.ac.id](mailto:masfufatun@uwks.ac.id)

#### **Abstrak**

*Candida albicans* merupakan salah satu jenis *Candida* yang banyak ditemukan di lingkungan dan termasuk mikrobiota normal. *Candida albicans* bisa menjadi patogen ketika keseimbangannya terganggu, sehingga akan menyebabkan infeksi. Infeksi jamur yang disebabkan oleh *Candida* disebut sebagai kandidiasis. Antijamur yang banyak digunakan saat ini yaitu azole, polien, echinocadin, allylamine, dan fluoropyrimidine. Resistensi antijamur terhadap biofilm diperkirakan 10.000 kali lipat dibanding dalam wujud planktonik. Hampir seluruh bagian cengkeh dapat dimanfaatkan mulai dari daun, bunga, dan rantingnya. Daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dapat digunakan untuk mengobati penyakit infeksi salah satunya kandidiasis. Pada uji fitokimia ekstrak daun cengkeh terdapat kandungan flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan alkaloid. Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental murni dengan pendekatan post test control group only desain. Uji aktivitas antibiofilm ekstrak etanol daun cengkeh menggunakan metode microtiter plate biofilm assay. Hasil uji aktivitas antibiofilm menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh (*S. aromaticum*) yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans* dengan persentase aktivitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 20%. Penentuan nilai MBIC<sub>50</sub> dilakukan dengan menggunakan analisis probit, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh (*S. aromaticum*) yang dapat menghambat 50% pertumbuhan biofilm *C. albicans* terletak pada konsentrasi 0,22%.

**Kata kunci:** Biofilm, *Candida albicans*, Daun cengkeh, Kandidiasis

#### **PENDAHULUAN**

*Candida* merupakan genus jamur yang sering ditemukan di lingkungan, terutama pada daerah beriklim tropis (Mbatu *et al.*, 2018). *Candida albicans* merupakan jenis *Candida* yang paling banyak ditemukan dan termasuk mikrobiota normal (Khafidhoh *et al.*, 2015). *C. albicans* bisa menjadi patogen ketika keseimbangannya terganggu, sehingga menyebabkan infeksi. Infeksi jamur yang disebabkan oleh *Candida* disebut sebagai kandidiasis (Masfufatun *et al.*, 2014).

Di Indonesia angka kejadian kandidiasis sekitar 20-25% (Puspitasari *et al.*, 2019). Terjadinya kekambuhan kandidiasis berhubungan dengan patogenisitas dari *C. albicans*, salah satunya didukung oleh kemampuan dalam pembentukan biofilm. Tahapan pembentukan biofilm meliputi tahap perlekatan, pembentukan mikrokoloni, pembentukan biofilm, pematangan, dan dispersi sel. Biofilm tersusun dari berbagai jenis sel, melekat di permukaan biotik maupun abiotik serta tertanam pada lapisan yang disebut matriks eksopolisakarida (Gulati *et al.*, 2016).

Antijamur yang banyak digunakan saat ini yaitu azole, polien, echinocadin, allylamine, dan fluoropyrimidine. Resistensi antijamur terhadap biofilm diperkirakan 10.000 kali lipat dibanding dalam wujud planktonik. Resistensi antijamur terjadi karena adanya komponen pembentuk biofilm yang kompleks sehingga antijamur menjadi lebih sulit untuk bekerja (Sharma *et al.*, 2016).

Dibutuhkan suatu upaya untuk menghambat pertumbuhan baik dalam wujud planktonik maupun biofilm. Salah satunya dengan menggunakan bahan alam. Menurut penelitian yang telah dilakukan, terdapat efek antibiofilm dari nanoemulsi minyak atsiri cengkeh terhadap

*Staphylococcus aureus* dengan MIC 0,62 mg/mL, dan terhadap *C. albicans* dengan MIC 50 mg/mL (Shehabeldine *et al.*, 2023).

Daun cengkeh (*S. aromatum*) dapat digunakan untuk mengobati penyakit infeksi salah satunya kandidiasis. Pada fitokimia ekstrak daun cengkeh, baik ekstrak kasar maupun terpurifikasi terdapat kandungan flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan alkaloid (Novema *et al.*, 2022).

## METODE

Desain penelitian yang digunakan yaitu eksperimental murni dengan pendekatan *post test control group only desain*. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibiofilm ekstrak etanol daun cengkeh yaitu *microtiter plate biofilm assay*.

### 1. Ekstraksi daun cengkeh

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Menyiapkan serbuk simplisia sebanyak 995g kemudian memasukkannya ke dalam maserator. Menambahkan pelarut etanol 96%. Setelah itu mendinginkan hingga seluruh serbuk simplisia terendam selama 3x24 jam sembari diaduk secara berkala. Kemudian campuran tersebut disaring dan ampasnya direndam kembali menggunakan etanol 96% yang baru. Proses penyaringan lanjutan akan dilakukan sebanyak 2 kali menggunakan etanol 96%. Ekstrak cair disatukan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 78°C sampai menghasilkan ekstrak kental (Wahyulianingsih *et al.*, 2016).

### 2. Konsentrasi ekstrak

Setiap perlakuan membutuhkan 4 kali pengulangan pada 8 kelompok uji maka konsentrasi yang digunakan di setiap perlakuan adalah 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%. Ekstrak kental daun cengkeh yang telah jadi ditimbang dimulai pada konsentrasi yang terbesar yaitu 20%. Kemudian dimasukkan ke dalam botol vial. Larutan ekstrak kental daun cengkeh dicairkan menggunakan pelarut *dimethyl sulfoxide* (DMSO) sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan.

### 3. Regenerasi dan pembuatan inokulum *C. albicans*

Isolat yang disimpan dalam gliserol harus diregenerasi terlebih dahulu. Isolat diinokulasi sebanyak 1 ose dengan metode streak plate atau menggoreskan koloni. Selanjutnya, media SDA baru diinkubasi menggunakan inkubator selama 2-3 hari sehingga akan terbentuk koloni tunggal *C. albicans*. Selanjutnya, dilakukan Inokulasi pada media SDB selama 18-20 jam pada suhu ruangan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm menghasilkan inokulum.

### 4. Uji Pertumbuhan Biofilm

Suspensi *C.albicans* sebanyak 100 µl dimasukkan ke dalam sumuran pada baris A-D, kolom 1-8, 9, dan 10 diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam. Selanjutnya, setiap sumuran dicuci 2 kali menggunakan PBS. Sel planktonik *C.albicans* yang tidak menempel dibuang secara perlahan dengan dibalik dan dituangkan di atas tisu hingga didapatkan *C.albicans* yang menempel pada *microplate*. Ditambah dengan 100 µl ekstrak dalam konsentrasi 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, RPMI (untuk kontrol positif, negatif, dan blanko media), dan flukonazol (untuk kontrol positif). Suspensi *C.albicans* sebanyak 50 µl juga dimasukkan ke dalam sumuran pada baris G dan H untuk blanko sampel. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Zhu *et al.*, 2023).

### 5. Uji hambatan pertumbuhan biofilm

Setiap sumuran dicuci sebanyak 2 kali menggunakan PBS. Sel-sel planktonik *C.albicans* yang tidak menempel dihilangkan secara perlahan dengan dibalik dan dituangkan di atas tisu sehingga didapatkan *C.albicans* yang menempel pada *microplate*. Biofilm difiksasi menggunakan metanol selama 15 menit kemudian dikeringkan pada suhu kamar. Selanjutnya, ditambahkan larutan 0,1% kristal violet pada setiap sumuran untuk perwarnaan selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya, dicuci sebanyak 3 kali menggunakan PBS. Menambahkan etanol 96% pada setiap sumuran kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dan diukur menggunakan *microplate reader* (Zhu *et al.*, 2023).

## 6. Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC<sub>50</sub>)

MBIC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh paling rendah yang bisa menghambat 50% pertumbuhan dari biofilm *C. albicans*. Nilai MBIC<sub>50</sub> ditentukan dengan menggunakan data OD pertumbuhan yang dikonversi menjadi % hambatan pertumbuhan dan dianalisis dengan probit SPSS (Gupta *et al.*, 2016).

## 7. Analisis data

Metode analisis data hasil penelitian dilakukan menggunakan analisis statistik SPSS (*Statistical Product of Service Solution*). Jika data yang kurang dari 50 maka uji normalitas yang dipakai adalah uji Shapiro-wilk. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene jika terbukti bahwa data berdistribusi normal atau mendekati normal.

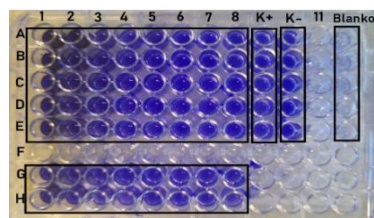
Uji *One-Way Anova* digunakan untuk melihat perbedaan pertumbuhan *C. albicans* pada variasi konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh. Akan tetapi, jika data yang dihasilkan tidak normal dan tidak homogen maka menggunakan uji non parametrik yaitu *kruskal-wallis*. Uji *Post Hoc* merupakan uji lanjutan untuk menganalisis kelompok uji manakah yang memiliki perbedaan secara signifikan. Selanjutnya, untuk mengetahui MBIC<sub>50</sub> maka dilakukan dengan analisis probit SPSS.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Karakteristik Daun Cengkeh

Daun cengkeh diperoleh dari Kecamatan Jatirejo, Kabupaten Mojokerto. Daun cengkeh yang telah dipetik, dicuci, dan dikeringkan dengan angin selama satu minggu. Kemudian, daun cengkeh dihaluskan menggunakan blander hingga menjadi serbuk. Serbuk daun cengkeh yang didapatkan sebanyak 995g. Pembuatan ekstrak etanol daun cengkeh menggunakan metode maserasi menghasilkan ekstrak daun cengkeh sebanyak 156g dengan warna coklat kehijauan.

### 2. Uji Deteksi Pertumbuhan Biofilm



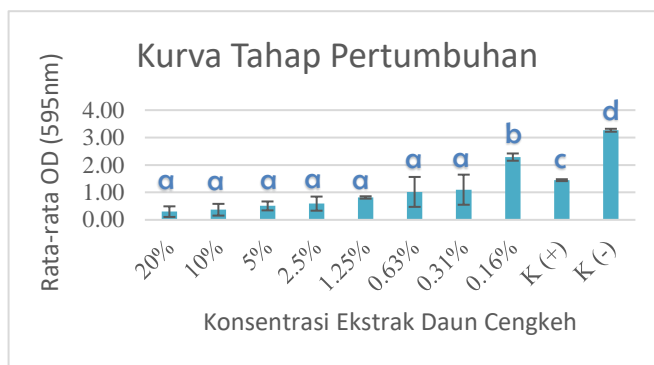
Gambar 1. Pertumbuhan Biofilm

Berdasarkan Gambar 1. diperoleh hasil bahwa ekstrak daun cengkeh dengan konsentrasi 20% setelah pemberian kristal violet memiliki warna ungu pudar. Semakin kecil konsentrasi, maka warna ungu yang dihasilkan semakin pekat artinya semakin tinggi tingkat kepadatan biomassa biofilmnya. Warna ungu yang paling pekat terdapat pada kelompok kontrol negatif. Selanjutnya, dilakukan pengukuran nilai *Optical Density* yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. OD Pertumbuhan Biofilm

Replikasi	Konsentrasi Ekstrak Cengkeh								Kontrol	
	20%	10%	5%	2.5%	1.25%	0.63%	0.31%	0.16%	K (+)	K (-)
1	0.24	0.22	0.28	0.69	0.87	1.31	1.38	2.47	1.42	3.21
2	0.52	0.12	0.44	0.72	0.81	1.31	1.44	2.34	1.49	3.28
3	0.42	0.47	0.67	0.15	0.84	1.38	1.43	2.24	1.47	3.35
4	0.02	0.67	0.66	0.81	0.75	0.08	0.15	2.11	1.41	3.22
Rata-rata	0.30	0.37	0.51	0.59	0.82	1.02	1.10	2.29	1.45	3.27
Std	0.19	0.21	0.16	0.26	0.04	0.55	0.55	0.13	0.03	0.05

Pada Tabel 1. dilakukan replikasi sebanyak empat kali dengan didapatkannya nilai OD rata-rata tertinggi dan terendah pada kelompok uji dengan konsentrasi 0,16% dan 20%. Pada konsentrasi 0,16% didapatkan nilai OD yaitu 2,29 artinya daya hambat ekstrak daun cengkeh pada tahap pertumbuhan biofilm *C. albicans* semakin rendah dan pada konsentrasi 20% memiliki OD yaitu 0,30 artinya daya hambat ekstrak daun cengkeh pada tahap pertumbuhan biofilm *C. albicans* semakin tinggi sehingga pertumbuhan biofilm *C. albicans* semakin rendah. Sedangkan, untuk kelompok kontrol nilai OD tertinggi terdapat pada kontrol negatif (K-) karena kelompok kontrol negatif tidak diberikan perlakuan apapun terhadap sel *C. albicans* yang tumbuh pada *microplate*.



abc superscript bila memuat huruf sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna

**Gambar 2. Hasil Uji Post hoc Biofilm *C. albicans* Tahap Pertumbuhan**

Hasil uji *Post hoc* kelompok yang berbeda secara signifikan terdapat pada konsentrasi 0,16%, kontrol positif, dan kontrol negatif sedangkan kelompok yang tidak memiliki perbedaan secara signifikan terdapat pada konsentrasi 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%, 10%, dan 20%. Sehingga, konsentrasi yang efektif terdapat pada konsentrasi 0,16%.

**Tabel 2. Hambatan Pertumbuhan Biofilm**

% Hambatan Pertumbuhan	Konsentrasi Ekstrak Cengkeh							
	20%	10%	5%	2.5%	1.25%	0.63%	0.31%	0.16%
	90.83	88.70	84.44	81.89	75.00	68.80	66.32	29.94

Dari Tabel 2. hasil hambatan pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 20% artinya pertumbuhan biofilm *C. albicans* semakin rendah dan sebaliknya pada konsentrasi 0,16% memiliki daya hambat pertumbuhan paling rendah artinya pertumbuhan biofilm *C. albicans* semakin tinggi.

Penentuan nilai MBIC<sub>50</sub> menggunakan analisis probit didapatkan hasil konsentrasi ekstrak daun cengkeh yang dapat menghambat 50% pertumbuhan biofilm *C. albicans* terletak pada konsentrasi 0,22%.

Daun cengkeh yang digunakan berusia sekitar 6-8 bulan, berwarna hijau, dan masih segar. Tujuan dilakukannya metode maserasi yaitu agar senyawa aktif yang terkandung tidak rusak oleh pemanasan. Pelarut etanol 96% dipilih karena merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa organik pada sampel baik senyawa polar maupun non polar. Pelarut etanol 96% memiliki polaritas yang lebih rendah dibandingkan metanol 70%. Dari hasil maserasi 995g simplisia daun cengkeh didapatkan ekstrak kental sebanyak 156g dengan persen rendemen 16%. Penelitian ini sejalan dengan yang dilakukan oleh Suhendar dan Sogandi (2019) ekstraksi daun cengkeh menggunakan metode maserasi. Akan tetapi, untuk pelarut pada penelitian tersebut menggunakan

metanol 70%. Hasil dari metode tersebut dari 1 kg simplisia daun cengkeh didapatkan ekstrak kental 100,08g dengan persen randemen 10%. Dimana hasil rendemen yang baik memiliki nilai >10% (Novema *et al.*, 2022).

Dimethyl sulfoxide (DMSO) digunakan untuk melarutkan senyawa organik yang kurang larut jika menggunakan aquades. DMSO adalah pelarut yang bisa melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Rahmi dan Putri (2020) didapatkan bahwa penggunaan DMSO sebagai pelarut tidak berpengaruh pada hasil uji yang dilakukan dengan menggunakan metode kertas cakram terhadap *C. albicans*. Pada penelitian ini menggunakan pelarut DMSO dikarenakan ekstrak etanol daun cengkeh tidak memiliki fase air.

Berdasarkan hasil uji penghambatan pertumbuhan biofilm pada Tabel 2. nilai OD kelompok uji lebih rendah dibandingkan OD kontrol positif kecuali pada konsentrasi 0,16%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 0,31% hingga 20% ekstrak etanol daun cengkeh memiliki efek pencegahan pertumbuhan biofilm yang lebih baik dibandingkan antibiotik flukonazole. Nilai OD dari konsentrasi 0,16% hingga 20% pada tahap pertumbuhan biofilm *C. albicans* semakin menurun sehingga semakin meningkat konsentrasi ekstrak yang digunakan maka kemampuan dalam mencegah pertumbuhan biofilm semakin meningkat. Kelompok uji paling efektif terdapat pada konsentrasi 20% dikarenakan persentasenya paling tinggi yaitu 90,83%. Sehingga, aktivitas antibiofilm ekstrak etanol daun cengkeh pada penghambatan pertumbuhan biofilm *C. albicans* tergolong tinggi karena presentase aktivitas antibiofilm  $\geq 50\%$ .

Pada tahap pertumbuhan penelitian dengan menggunakan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh pada konsentrasi 20% terhadap biofilm *C. albicans* menghasilkan nilai OD  $0,30 \pm 0,19$ . Sedangkan, pada penelitian yang dilakukan oleh Wulansari S. dan Mintarjo D. (2023) dimana konsentrasi 25% ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) terhadap biofilm *C. albicans* pada masa inkubasi 3 jam menghasilkan OD yaitu  $0,144 \pm 0,091$ . Artinya, ekstrak etanol daun cengkeh lebih efektif menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans* dibandingkan ekstrak etanol biji alpukat. Selain itu, penelitian yang telah dilakukan oleh Fauzan (2023) yaitu pengaruh ekstrak etanol kunyit (*C. longa*) terhadap pembentukan biofilm *C. albicans* memiliki nilai MBIC<sub>50</sub> 0,546%. Sedangkan, pada penelitian ini nilai MBIC<sub>50</sub> adalah 0,22%.

Pembentukan biofilm yang utama adalah proses *quorum sensing*. *Quorum sensing* adalah sebuah komunikasi melalui sinyal peptida dan farnesol, modulin yang larut pada fenol, rhamnolipid, molekul seperti *competence stimulating peptide*, *3,5 cyclic diguanylic acid* (c-di-GMP). Saat intensitas sinyal mencapai ambang batas, produksi eksopolisakarida yang didasari oleh mekanisme genetik akan terjadi. Selanjutnya, mikroorganisme akan mulai menghasilkan EPS sampai membentuk mikrokoloni. Mikrokoloni selanjutnya akan menjadi makrokoloni yang telah memiliki *fluid-filled channel* sebagai saluran buangan produk pada biofilm (Gupta *et al.*, 2016).

Daun cengkeh memiliki aktivitas antibiofilm karena mempunyai kandungan senyawa aktif seperti tanin, flavonoid, alkaloid, serta terpenoid. Ditahap pencegahan pertumbuhan alkaloid bekerja dengan menghambat *quorum sensing*. Tanin akan menghambat gen *icaA* dan *icaD*. Flavonoid adalah merusak membran sel secara irreversibel serta menyebabkan perubahan struktur protein dan asam nukleat sehingga protein penyusun EPS terdegradasi (Kining *et al.*, 2016). Terpenoid akan merusak porin dengan cara membentuk ikatan polimer yang kuat. Akibatnya, sel akan kekurangan nutrisi sehingga akan menekan pertumbuhan biofilm (Hamzah *et al.*, 2021).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka bisa disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh (*S. aromaticum*) memiliki efek antibiofilm terhadap pertumbuhan secara signifikan. Pada Konsentrasi tertinggi yaitu 20% dapat menghambat pertumbuhan 90.83%. Hasil *Minimum Biofilm Inhibitory Concentration* (MBIC<sub>50</sub>) adalah 0,22%. Dengan demikian, ekstrak etanol daun cengkeh berpotensi sebagai terapi alternatif untuk infeksi *C. albicans*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Departemen Biokimia Universitas Wijaya Kusuma Surabaya dan Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga.

## DAFTAR PUSTAKA

- Fauzan, L. Masfufatun, & Inawati. (2023). Pengaruh Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma longa*) terhadap Pembentukan Biofilm *Candida albicans*. *Jl-KES (Jurnal Ilmu Kesehatan)*, 6(2), 215–20. doi, 10.33006/jjikes.v6i2.481.
- Gulati, M. & Nobile, M. (2016). *Candida albicans* Biofilms, Development, Regulation, and Molecular Mechanisms. *Microbes and Infection*, 18(5),310–21. doi, 10.1016/j.micinf.2016.01.002.
- Gupta, P. Chhibber, S. & Harjai, K. (2016). Subinhibitory Concentration of Ciprofloxacin Targets *Quorum sensing* System of *Pseudomonas aeruginosa* Causing Inhibition of Biofilm Formation & Reduction of Virulence. *The Indian Journal of Medical Research*, 143(5), 643–51. doi, 10.4103/0971-5916.187114.
- Hamzah, H. Hertiani, T. Pratiwi, S. U. Nuryastuti, T. (2021). Efek Saponin terhadap Penghambatan Planktonik dan Mono-Spesies Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 pada Fase Pertengahan, Pematangan dan Degradasi. *Majalah Farmaseutik*, 17(2),198–205. doi, 10.22146/farmaseutik.v17i2.54444.
- Khafidhoh, Z. Dewi, S. S, & Iswara, A. (2015). Efektivitas Infusa Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix Dc.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Penyebab Sariawan Secara In Vitro. *Jurnal Medika Veterinaria*, 7(2),31–37. doi, 10.21157/j.med.vet..v7i2.2951.
- Kining, E, Falah, S. & Nurhidayat, N. (2016). The In Vitro Antibiofilm Activity of Water Leaf Extract of Papaya (*Carica papaya L.*) against *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Biochemistry*, 2(3),150–63. doi, 10.29244/cb.2.3.150-163.
- Masfufatun, Sudibya, A. & Indahsari, N. K. (2014). Potensi Ekstrak Protein *Candida albicans* sebagai Bioreseptor pada Imunosensor untuk Diagnosa Kandidiasis. *Ilmiah Kedokteran* 3(2), 26–39.
- Mbatu, R, S. Kenanda, I. P. Suharta, I. G. & Rita, W. S. (2018). Aktivitas Minyak Atsiri Daun Cengkeh sebagai Antijamur terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Media Sains*, 2(1),61–65.
- Novema, A.P. Ramadhani, M. A. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak kasar dan terpurifikasi daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Borobudur Pharmacy Review*. 2(1), 8-14. <https://doi.org/10.31603/bphr.v2i1.6934>
- Puspitasari, A. Kawilarang, A. P. Ervianti, A. & Rohiman, A. (2019). Profil Pasien Baru Kandidiasis (Profile of New Patients of Candidiasis). *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin*,31(1), 24–34
- Sharma, G., Sharma S, Sharma P. Chandola, D., Dang, S., Gupta, S., et al., (2016). Biofilm *Escherichia coli*: Pengembangan dan Strategi Terapi. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 309-319.
- Shehabeldine, A. M. Doghish, A. S. El-Dakroury, W. A. Hassanin, M. M. H. Al-Askar, A. A. AbdElgawad, H. Hashem, A. (2023). Antimicrobial, Antibiofilm, and Anticancer Activities of *Syzygium aromaticum* Essential Oil Nanoemulsion. *Molecules*. 28. <https://doi.org/10.3390/molecules28155812>
- Suhendar, U. & Sogandi. (2019). Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sebagai Inhibitor *Streptococcus mutans*. *Al-Kaunyah, Jurnal Biologi*, 12(2),229–39. doi, 10.15408/kaunyah.v12i2.12251.
- Wahyulianingsih, Handayani, S. & Malik, A. (2016). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2),188–93. doi, 10.33096/jffi.v3i2.221.

Wulansari, S. & Mintarjo, D. F. (2023). Efek Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana*) terhadap Biofilm *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Gigi Terpadu* 5(1),239–43. doi, 10.25105/jkgt.v5i1.17178.

Zhu, X. Wang, A. Zheng, Y. Li, D. Wei, Y. Gan, M. Li, Y & Si, S. (2023). Anti-Biofilm Activity of Cocultimycin A against *Candida albicans*. *Internasional Journal of molecular Sciences*, 24, 1-16. [https://doi.org/ 10.3390/ijms242317026](https://doi.org/10.3390/ijms242317026).