

PENGARUH PEMBERIAN MINYAK *Nigella sativa* DAN KOMBINASINYA DENGAN SEFTRIAKSON TERHADAP JUMLAH KUMAN *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) PADA KULTUR HATI MENCIT BALB/c

Ajrina Luthfita Bayu Putri¹, Edi Dharmana², Purnomo Hadi³

¹ Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf pengajar Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³ Staf pengajar Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan galur dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik. Seiring dengan peningkatan kejadian infeksi dan resistensi terhadap kuman MRSA, WHO telah merekomendasikan untuk mulai mencari alternatif pengobatan lain. *Nigella sativa* (jintan hitam) memiliki efek antibakteri. Pengaruh *Nigella sativa* terhadap jumlah kuman MRSA secara *in vivo* belum pernah diteliti.

Tujuan Mengetahui pengaruh pemberian minyak *Nigella sativa* dan kombinasinya dengan seftriakson terhadap jumlah kuman MRSA pada kultur hati mencit BALB/c.

Metode Penelitian eksperimental laboratorium murni dengan *Post Test Only Control Group Design*. Jumlah sampel 20 ekor mencit BALB/c jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok K diberi aquabides 0,03 ml, P1 diberi seftriakson 0,03 ml, P2 diberi minyak *Nigella sativa* 0,3 ml, P3 diberi kombinasi seftriakson 0,03 ml dan minyak *Nigella sativa* 0,3 ml. Sampel diinjeksikan kuman MRSA 0,2 ml (10^7 cfu/ml) secara intraperitoneal pada jam ke-0. Perlakuan diberikan pada jam ke-16 kemudian diterminasi pada jam ke-24. Uji statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*.

Hasil Hasil rerata jumlah kuman MRSA pada kultur hati kelompok K= $(83,8 \pm 123,65) \times 10^3$; P1= $(13,96 \pm 10,64) \times 10^3$; P2= $(0,64 \pm 1,16) \times 10^3$; P3= $(0,73 \pm 1,28) \times 10^3$. Terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah kuman MRSA pada kultur hati kelompok P2 dan P3 terhadap kontrol ($p=0,016$) dan P1 ($p=0,009$). Tidak ada perbedaan bermakna antara kontrol dengan P1 ($p=0,465$) dan P2 dengan P3 ($p=0,597$).

Kesimpulan Pemberian minyak *Nigella sativa* dan kombinasinya dengan seftriakson dapat menurunkan jumlah kuman MRSA pada kultur hati mencit BALB/c secara bermakna.

Kata kunci : *Nigella sativa*, Jintan hitam, seftriakson

ABSTRACT

THE EFFECT OF *Nigella Sativa* OIL AND ITS COMBINATION WITH CEFTRIAZONE TOWARD *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) GROWTH IN LIVER OF BALB/c MICE

Background *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) is a strain of *Staphylococcus aureus* which is resistant to many antibiotics. Along with the increased incidence of MRSA infections and resistances, WHO has recommended to start looking for other treatment alternatives. *Nigella sativa* (black seed) has an antibacterial effect. Effects of *Nigella sativa* on the number of MRSA bacteria *in vivo* have not been investigated.

Aims To prove the effect of *Nigella sativa* oil and its combination with ceftriaxone toward MRSA count in cultured liver of BALB/c mice.

Methods The study design was purely an experimental laboratory with Post Test Only Control Group Design. The samples were 20 males BALB/c mice, randomized into 4 groups. Control was given 0,03 ml aquabidest, P1 was given 0,03 ml ceftriaxone, P2 was given 0,3 ml *Nigella sativa* oil and P3 was given the combination of 0,03 ml ceftriaxone and 0,3 ml *Nigella sativa* oil. 0,2 ml (10^7 cfu/ml) MRSA was injected intraperitoneally at the hour 0. The treatment was given at the hour 16 and mice were terminated at the hour 24. Analysis data use Kruskal-Wallis Test and Mann-Whitney Test.

Results Results of the mean number of MRSA bacteria in liver culture were $K=(83,8 \pm 123,65) \times 10^3$; $P1=(13,96 \pm 10,64) \times 10^3$; $P2=(0,64 \pm 1,16) \times 10^3$; $P3=(0,73 \pm 1,28) \times 10^3$. The number of MRSA bacteria gave significant results in P2 and P3 toward control group ($p=0,016$) and P1 ($p=0,009$). There were no significant difference between control toward P1 ($p=0,465$) and P2 toward P3 ($p=0,597$).

Conclusion Administration of *Nigella sativa* oil and its combination with ceftriaxone can reduce the number of MRSA bacteria in liver cultures of BALB/c mice significantly.

Key words : *Nigella sativa*, black seed, ceftriaxone

PENDAHULUAN

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan galur dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik. MRSA tidak hanya resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam tetapi juga resisten terhadap antibiotik golongan non-betalaktam seperti makrolida (eritromisin), inhibitor sintesa protein (tetrasiklin, kloramfenikol) dan kuinolon. Antibiotik yang masih efektif untuk mengobati pasien MRSA adalah vankomisin.¹

Beberapa tahun terakhir kejadian resistensi antibiotik semakin meningkat dan *strain* yang tidak sensitif terhadap vankomisin mulai bermunculan. Resistensi dapat disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan adanya sisipan suatu elemen *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) yang disebut *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (*SCCmec*). *SCCmec* mengandung gen *mecA* yang mendasari terjadinya resistensi.¹ Transmisi bakteri MRSA terjadi melalui kontak antarmanusia, baik yang terinfeksi MRSA maupun yang tidak, misalnya petugas kesehatan dan keluarga. Transmisi juga bisa terjadi melalui udara dan fasilitas ruangan.^{1,2}

MRSA pertama kali ditemukan di rumah sakit pada tahun 1960-an di Eropa, kemudian menyebar dengan pesat secara global dan sekarang telah menjadi salah satu penyebab utama

infeksi nosokomial di dunia.^{1,3} MRSA sering juga disebut *Healthcare-Associated Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (HA-MRSA) karena infeksiya sering terjadi di dalam lingkungan rumah sakit atau antarrumah sakit. Jenis baru infeksi MRSA ditemukan di Amerika Serikat pada tahun 1998, di mana infeksi MRSA tersebut tidak berasal dari rumah sakit melainkan berasal dari komunitas. MRSA jenis baru tersebut disebut dengan *Community-Associated Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (CA-MRSA).³ Prevalensi kejadian infeksi MRSA semakin meningkat. Data menunjukkan bahwa dari 94.000 kasus infeksi di Amerika, angka morbiditas akibat infeksi MRSA mencapai 18.650 kasus.⁴ Prevalensi infeksi MRSA di Asia mencapai 70% sedangkan di Indonesia prevalensinya mencapai 23,5% pada tahun 2006.⁵

Seiring dengan peningkatan kejadian infeksi dan resistensi terhadap kuman MRSA, WHO telah merekomendasikan untuk mulai mencari antibiotik baru dan alternatif pengobatan lain baik sebagai obat utama maupun sebagai adjuvan, contohnya yaitu pengobatan dengan menggunakan obat dari tanaman tradisional. Terdapat berbagai macam tanaman tradisional yang memiliki efek antibakteri, salah satunya yaitu *Nigella sativa* atau yang lebih dikenal dengan sebutan jintan hitam. *Nigella sativa* adalah tanaman herbal yang berasal dari daerah Mediterania tapi sudah banyak dikembangkan di berbagai daerah di dunia seperti Arab Saudi, Afrika Utara, dan Asia. Ekstrak biji dan minyak dari *Nigella sativa* memiliki banyak efek farmakologi, di antaranya adalah efek antibakteri, antivirus dan antifungal. *Nigella sativa* juga berperan sebagai anti radang, antioksidan, analgesik, pengawet makanan dan penyembuhan luka.^{6,7}

Berbagai penelitian baik secara *in vivo* maupun *in vitro* telah melaporkan bahwa ekstrak dari minyak *Nigella sativa*, yang mengandung timokuinon (TQ) dan timohidrokuinon (THQ), mempunyai efek inhibisi terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Penelitian – penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa *Nigella sativa* mempunyai efek lebih besar terhadap bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif.⁷⁻¹¹ Penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Hannan dkk dan Nagi dkk membuktikan bahwa ekstrak *Nigella sativa* juga memiliki efek inhibisi terhadap aktivitas mikroorganisme multiresisten seperti kuman MRSA.^{6,9} Berdasarkan penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Aditya dkk, *Nigella sativa* menghambat pertumbuhan MRSA pada konsentrasi 1% dengan waktu kontak lebih dari 4 menit.¹²

Beberapa penelitian telah dilakukan secara *in vitro* untuk membuktikan efek antibakteri *Nigella sativa* dalam menghambat aktivitas kuman, terutama kuman MRSA, namun penelitian *in vivo* untuk membuktikan efek *Nigella sativa* dalam mengurangi jumlah kuman MRSA masih belum pernah dilakukan. Pengaruh kombinasi antara antibiotik dengan *Nigella sativa* terhadap jumlah kuman MRSA juga belum pernah diteliti. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan diteliti lebih lanjut pengaruh minyak *Nigella sativa* dan kombinasinya dengan seftriakson terhadap jumlah kuman MRSA secara *in vivo* pada mencit. Seftriakson dipilih dalam penelitian ini karena antibiotik tersebut lebih stabil terhadap bakteri penghasil enzim betalaktamase dan dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam infeksi berat yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik. Kombinasi antara minyak *Nigella sativa* dan seftriakson diharapkan dapat memicu interaksi yang sinergis.^{13,14}

Dosis minyak *Nigella sativa* yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,3 ml. Dosis tersebut didapatkan dari penelitian *in vivo* yang dilakukan oleh Buyukozturk dkk mengenai efek imunomodulator pada mencit.¹⁵ Dosis tunggal seftriakson yang dibutuhkan pada kebanyakan infeksi berat adalah sebesar 1 g per hari secara intravena.¹³ Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis tunggal tersebut yang dikonversikan ke dalam perhitungan dosis untuk mencit yaitu 0,03 ml. Parameter yang diukur adalah jumlah kuman MRSA pada kultur hati mencit BALB/c. Hati dipilih pada penelitian ini karena hati ikut berperan dalam sistem imun melalui sel *Kupffer* dan produksi sitokin yang akan berikatan dengan sel asing atau antigen untuk mengontrol infeksi.¹⁶

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni dengan desain *post test only control group design*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei hingga Juni 2015 di Laboratorium Parasitologi dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Sampel adalah mencit BALB/c yang didapatkan dari *Rattus Breeding Centre* Malang. Semua sampel memenuhi kriteria inklusi yaitu mencit BALB/c jantan, umur 7 – 9 minggu dengan berat badan 25 gram dan dalam kondisi sehat.

Mencit BALB/c yang dijadikan sebagai sampel penelitian dibagi secara acak dengan metode *simple random sampling* menjadi 4 kelompok. Kelompok K diberi aquabides 0,03 ml,

P1 diberi seftriakson 0,03 ml, P2 diberi minyak *Nigella sativa* 0,3 ml, P3 diberi kombinasi seftriakson 0,03 ml dan minyak *Nigella sativa* 0,3 ml. Sampel diinjeksikan kuman MRSA 0,2 ml (10^7 cfu/ml) secara intraperitoneal pada jam ke-0. Perlakuan diberikan pada jam ke-16 kemudian diterminasi pada jam ke-24.

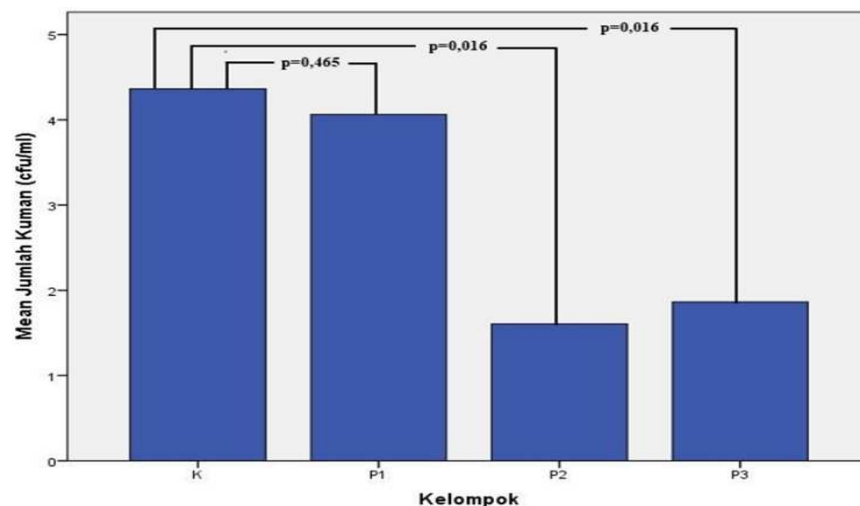
HASIL

Tabel 1. Rerata jumlah kuman MRSA pada kultur hati

Variabel	Mean \pm SD (10^3 cfu/ml)
K	83,8 \pm 123,65
P1	13,96 \pm 10,64
P2	0,64 \pm 1,16
P3	0,73 \pm 1,28

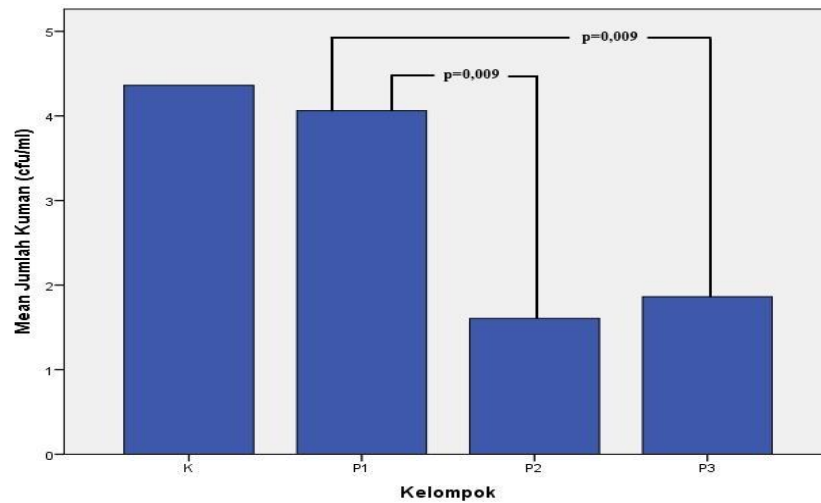
Tabel di atas menunjukkan nilai rerata jumlah kuman pada kultur hati dari masing-masing kelompok. Nilai rerata pada 3 kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Nilai rerata tertinggi didapatkan pada kelompok kontrol yaitu $83,8 \times 10^3$ cfu/ml dan nilai rerata terendah didapatkan pada kelompok P2 yaitu $0,64 \times 10^3$ cfu/ml.

Gambar 1. Grafik bar K terhadap P1, P2 dan P3



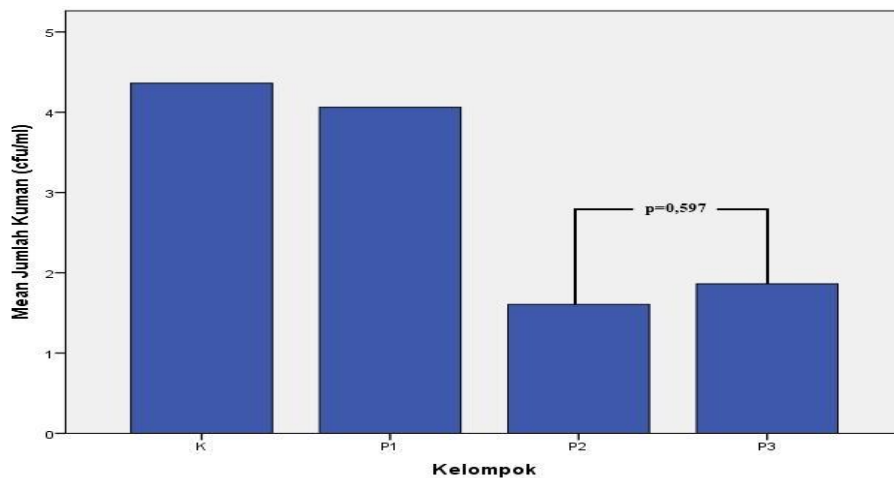
Gambar di atas menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara K dengan P1 ($p=0,465$) namun terdapat perbedaan bermakna antara K dengan P2 ($p=0,016$) dan P3 ($p=0,016$).

Gambar 2. Grafik *bar* P1 terhadap P2 dan P3



Gambar di atas menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara P1 dengan P2 ($p=0,009$) dan P3 ($p=0,009$).

Gambar 3. Grafik *bar* P2 terhadap P3



Gambar di atas menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara P2 dengan P3 ($p=0,597$).

PEMBAHASAN

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan galur dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik. MRSA tidak hanya

resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam tetapi juga resisten terhadap antibiotik golongan non-betalaktam seperti makrolida, inhibitor sintesa protein dan kuinolon. Resistensi dapat disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan adanya sisipan suatu elemen DNA yang disebut *SCCmec*. *SCCmec* mengandung gen *mecA* yang mendasari terjadinya resistensi antibiotik.^{1,3}

Nigella sativa sudah digunakan sebagai tanaman herbal selama ribuan tahun di beberapa daerah Asia dan Timur Tengah. Tanaman tersebut mempunyai berbagai manfaat diantaranya yaitu efek antibakteri dan imunomodulator.^{6,17} *Nigella sativa* memiliki berbagai macam kandungan yang berperan sebagai antibakteri spektrum luas, diantaranya yaitu saponin, TQ, THQ, fenilpropanoid, dan tanin.^{12,18} Banyak penelitian telah membuktikan efek imunomodulator *Nigella sativa*. *Nigella sativa* terbukti dapat meningkatkan proliferasi sel NK, makrofag dan sel T. Sel T akan berproliferasi menjadi Th1 dan Th2 yang akan mensekresi sitokin – sitokin seperti IL2, TNF α dan IFN γ . Sitokin akan mengaktifkan sel B yang akan menghasilkan immunoglobulin yang berperan dalam respon terhadap infeksi.¹⁹⁻²¹

Pemberian terapi minyak *Nigella sativa* dan kombinasi seftriakson – minyak *Nigella sativa* berpengaruh terhadap jumlah kuman MRSA pada kultur hati mencit. Kedua kelompok perlakuan tersebut menghasilkan penurunan jumlah kuman MRSA yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol (K).

Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara jumlah kuman MRSA pada kelompok perlakuan yang diberi terapi minyak *Nigella sativa* 0,3 ml (P2) dan kombinasi seftriakson 0,03 ml – minyak *Nigella sativa* 0,3 ml (P3) dengan kelompok K yang tidak diberi terapi. Hasil tersebut sesuai dengan hipotesis yaitu terdapat pengaruh pemberian minyak *Nigella sativa* dan kombinasi seftriakson – minyak *Nigella sativa* terhadap jumlah kuman MRSA pada kultur hati mencit BALB/c. Hal ini sesuai dengan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya yaitu *Nigella sativa* mempunyai efek antibakteri terhadap MRSA baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Hannan dkk dan Nagi dkk membuktikan bahwa ekstrak *Nigella sativa* juga memiliki efek inhibisi terhadap aktivitas mikroorganisme multiresisten seperti kuman MRSA.^{6,9}

Berdasarkan penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Aditya dkk, *Nigella sativa* dengan konsentrasi 1% dapat menghambat pertumbuhan MRSA dengan waktu kontak lebih dari 4

menit.¹² Penelitian *in vivo* yang dilakukan oleh Hosseinzadeh dkk menjelaskan bahwa minyak dari *Nigella sativa* dengan dosis 0,3 g/kgBB mencit mempunyai daya hambat aktifitas kuman *Staphylococcus aureus* yang paling baik.⁷

Kelompok perlakuan yang hanya diberi seftriakson 0,03 ml (P1) tidak memiliki penurunan jumlah kuman MRSA yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok K, tetapi memiliki perbedaan yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok P2 dan P3. Kelompok P1 memiliki rerata jumlah kuman MRSA yang lebih banyak apabila dibandingkan dengan kedua kelompok P2 dan P3. Hal ini dapat disebabkan karena kuman MRSA telah resisten terhadap seftriakson.^{1,3}

Perbandingan antara kelompok P3 dengan kelompok P2 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik. Jumlah kuman MRSA pada mencit yang hanya diberi minyak *Nigella sativa* menunjukkan rerata lebih sedikit jika dibandingkan dengan mencit yang diberi terapi kombinasi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak ada sinergisme antara minyak *Nigella sativa* dan seftriakson. Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya dimana dilaporkan bahwa terdapat sinergisme antara ekstrak dietil eter dari *Nigella sativa* dengan beberapa antibiotik dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhimirium*.

Penelitian secara *in vivo* yang dilakukan oleh Jamil dkk menunjukkan bahwa kombinasi antibiotik sefadroksil dan dosis adjuvan ekstrak biji *Nigella sativa* 3,9 mg/20gBB mencit menghasilkan aktivitas antibakteri pada bakteri probiotik di saluran cerna mencit.²² Penelitian yang dilakukan oleh Halawani menunjukkan bahwa kombinasi TQ dan THQ dengan berbagai macam antibiotik diantaranya ampicilin, sefalekssin, gentamisin, tetrasiklin, kloramfenikol, sulfametoksazol dan siprofloksasin memiliki efek sinergisme dalam menghambat dan membunuh bakteri gram negatif dan gram positif, terutama *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi 3 µg/ml dan 6 µg/ml dari TQ sudah dapat menghasilkan efek inhibitori sedangkan untuk THQ dibutuhkan 400 µg/ml dan 800 µg/ml.¹¹

Penelitian ini masih terdapat keterbatasan yaitu tidak menggunakan variasi dosis dari minyak *Nigella sativa* dan kombinasinya dengan antibiotik untuk menentukan penggunaan dosis yang tepat serta tidak menentukan toksisitasnya. Penelitian mengenai pengaruh *Nigella sativa* terhadap pertumbuhan kuman MRSA belum pernah dilakukan sehingga sumber pustaka untuk pembanding masih terbatas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian minyak *Nigella sativa* dan kombinasinya dengan seftriakson dapat menghambat pertumbuhan kuman MRSA pada kultur hati mencit BALB/c. Penelitian lebih lanjut dengan variasi dosis pada setiap kelompok untuk mengetahui dosis kombinasi minyak *Nigella sativa* dan antibiotik secara tepat untuk mendapatkan penurunan jumlah kuman MRSA yang paling efektif dan mengetahui dosis maksimal yang dapat menyebabkan toksisitas. Penelitian lebih lanjut membandingkan *Nigella sativa* dengan antibiotik yang sensitif dengan MRSA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Al-Khalaf M.I KSR. Antimicrobial and Anticancer Activity of Nigella sativa oil – A Review. Aust J Basic Appl Sci; 2013;7(7):505–14.
2. Al-somat M, Al-adhal A, Ghanem N, Al-moyed K, Shopit A. Susceptibility of Clinical Bacterial Isolates and Control Strains to Nigella Sativa Oil; 2014.
3. Amrullah A, Satari MH. Efektivitas Daya Antibakteri Habatussaudah terhadap Staphylococcus aureus Resisten Metisilin (MRSA). FKG Universitas Padjajaran; 2009.
4. Büyüköztürk S, Gelincik A, Özşeker F, Genç S, Şavran FO, Kiran B, et al. Nigella sativa (black seed) oil does not affect the T-helper 1 and T-helper 2 type cytokine production from splenic mononuclear cells in allergen sensitized mice. J Ethnopharmacol. 2005;100:295–8.
5. Halawani E. Antibacterial activity of timokuinon and thymohydroquinone of Nigella sativa L. and their interaction with some antibiotics. Adv Biol Res (Rennes). 2009; 3 : 148–52.
6. Hannan A, Saleem S, Chaudhary S, Barkaat M, Arshad MU. Anti bacterial activity of Nigella sativa against clinical isolates of methicillin resistant Staphylococcus aureus. J Ayub Med Coll Abbottabad; 2008;20(3):72–4.
7. Hosseinzadeh H, Bazzaz BSF, Haghi MM. Antibacterial activity of total extracts and essential oil of Nigella Sativa L. seeds in mice. Pharmacolgyonline; 2007;435:429–35.
8. Ismaeil AS. Effect of Black Seed Alkaloids Against some Pathogenic Bacteria; 2011;22(4):9–16.
9. Jamil AS, Adi B, Prasaja B, Ariani A, Hardi Z. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji Nigella sativa terhadap Viabilitas Bakteri Probiotik Secara In Vitro dan In Vivo. Pharmacy, Jurnal Farmasi Indonesia, 11(02);2014.
10. Johnson AG, Ziegler RJ, Hawley L. Essential Mikrobiologi dan Imunologi Edisi Kelima. Jakarta: Binarupa Aksara; 2011.
11. Katzung, Bertram G. Farmakologi Dasar dan Klinik (Basic and Clinical Pharmacology) Edisi 10. Jakarta: EGC; 2012.
12. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pealler MA, Tenen RH. Manual of Clinical Microbiology Vol. 1 Ed. 8th. Washington DC : ASM Press; 2003.

13. Nagi AA, Mariana NS, Hana FZ, Rasedee A. Extraction of Essential Oil from *Nigella sativa* Using Supercritical Carbon Dioxide : Study of Antibacterial Activity Laboratory Immunotherapeutic and Vaccine, Institute of Bioscience Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine and H. Am J Pharmacol Toxicol; 2008;3(4):225–8.
14. Organization WH. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance World Health Organization; 2014.
15. Paarakh PM. *Nigella sativa* Linn.- A comprehensive review. Indian J Nat Prod Resour; 2010;1(4):409–29.
16. Putra, Nordiansyah. Effect Antimicrobial *Nigella sativa* for Inhibits Growth of Bacteria. Majority; 2015;4(4):70-3.
17. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. International Immunopharmacology; 2005. p. 1749–70.
18. Saxena, R. Practical Hepatic Pathology: A Diagnostic Approach: A Volume in the Pattern Recognition Series. Elsevier Health Sciences; 2012.
19. Sulistyarningsih. Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA). Bandung : Universitas Padjajaran; 2010.
20. Todar, Kenneth. *Todar's online textbook of bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology; 2006.
21. Yuwono H, Biomed M. Pandemi Resistensi Antimikroba : Belajar dari MRSA; 2010;(1):2837–50.
22. Yuwono. *Staphylococcus aureus* dan *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Palembang: Departemen Mikrobiologi FK Unsri; 2012.