

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Maria Angelina¹, Masnur Turnip¹, Siti Khotimah¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
Email korespondensi: tham_chi32@yahoo.com

Abstract

Escherichia coli and *Staphylococcus aureus* are pathogenic bacteria that can cause intestinal and skin infections. One of the potential medicinal plants that is active against bacteria is basil leaves (*Ocimum sanctum*). This research aims to examine the antibacterial activity of ethanol extracts of basil leaves against the growth of *E. coli* and *S. aureus*. The Research was conducted from September to December 2014. The ethanol extracts of basil leaves in this study used a concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, and *Thiamfenicol* as a positive control. The antibacterial activity test to observe inhibition zone was done through the disc diffusion method. The results showed that the extracts of basil leaves were bacteriostatic. In this research, the highest inhibition zone occurred at a concentrations of 100%, while the optimum treatment in inhibiting the growth of *E. coli* and *S. aureus* was the concentration of 80%. Based on results of the phytochemical test, the ethanol extract of *O. sanctum* had a secondary metabolite compounds i.e. flavonoid, tannin, and essential oil that act as antibacterial. The Anova statistical results showed a significant difference in the diameters of the inhibition zone of the treatment of extracts with positive control.

Keywords: antibacterial, Basil leaves, *Ocimum sanctum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Kemangi adalah tanaman yang mudah didapatkan tersebar hampir diseluruh Indonesia karena dapat tumbuh liar maupun dibudidayakan (Sudarsono *et al.*, 2002). Secara tradisional tanaman kemangi digunakan sebagai obat sakit perut, obat demam, menghilangkan bau mulut, dan sebagai sayuran. *O. sanctum* memiliki senyawa aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, tannin dan fenol. Beberapa golongan kandungan kimia tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Klebsiella pneumonia* seperti senyawa alkaloid, minyak atsiri dan fenol. Sifat dari penghambatan ini disebut sebagai bakteristatik atau bakteriosida (Hadipoentyanti dan Wahyuni, 2008).

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang banyak diderita masyarakat Indonesia sejak dulu. Zaman sekarang penyakit infeksi dapat ditanggulangi menggunakan obat modern seperti antibiotik. Penyakit infeksi yang banyak diderita masyarakat adalah infeksi usus yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, sedangkan penyebab penyakit infeksi kulit adalah bakteri *S. aureus*,

Pseudomonas aeruginosa dan sebagainya (Oktalia, 2009).

Penelitian terdahulu menggunakan kandungan flavonoid daun kemangi (*O. sanctum*) dapat memberikan efek antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus*, dan *K. pneumonia*. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa kombinasi dari kedua senyawa flavonoid daun kemangi yaitu orientin dan visenin memberikan efek antibakteri yang sinergis (saling menguatkan) dibandingkan dengan penggunaan salah satu dari kedua senyawa flavonoid tersebut (Ali dan Savita, 2012). Adanya indikasi bahwa kombinasi senyawa flavonoid daun kemangi (*O. sanctum*) mempunyai daya antibakteri, maka perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September sampai dengan Desember 2014. Sampel yang digunakan diperoleh dari perkebunan kemangi di Desa Kuala Dua, jalan Rasau Jaya, Kabupaten Kubu Raya. Tempat pelaksanaan penelitian ini adalah Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan

laboratorium Teknologi Kayu Fakultas Kehutanan, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.

Bahan

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.), Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), biakan bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), akuades steril, FeCl₃ 5%, magnesium (Mg), HCL pekat, CH₃COOH glasial, H₂SO₄ pekat, kloroform, pereaksi meyer, alkohol, etanol 96%, spritus, Thiamfenicol, dan Dimetilsulfoxida 10% (DMSO).

Prosedur Kerja

Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi (*O. sanctum*)

Daun kemangi diambil sebanyak 10 kg dicuci hingga bersih dan dikeringanginkan. Setelah kering daun kemangi diblender sampai halus, sehingga menjadi serbuk kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar. Setiap 1 x 24 jam simplisia yang telah dimaserasi dengan larutan etanol disaring hingga di peroleh filtrat. Filtrat pelarut tersebut kemudian diuapkan dengan menggunakan alat evaporator sehingga dihasilkan ekstrak kental daun kemangi.

Pembuatan Media

Media *nutrien agar* (NA) sebanyak 23 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer lalu dilarutkan dengan menambahkan 1 L akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* sambil dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Pembuatan media *nutrien broth* (NB) yaitu dengan melarutkan 8 gram NB dengan 1 L akuades kedalam Erlenmeyer, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan ditutup *aluminium foil*, dipanaskan hingga mendidih dengan menggunakan *hot plate* kemudian kedua media tersebut disterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit dan tekanan 2 atm (Irianto, 2006).

Pemurnian Bakteri

Biakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* masing-masing sebanyak satu ose diinokulasikan kedalam medium agar miring NA yang telah membeku secara terpisah dan aseptis dengan meletakkan jarum ose yang mengandung biakan pada dasar kemiringan agar dan ditarik dengan gerakan zig-zag (metode streak). Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37° C selama 24 jam (Afrani 2011).

Pembuatan Suspensi Kultur Murni Bakteri Uji

Sebanyak satu ose kultur bakteri dari media miring NA diambil dan dimasukkan ke dalam 60 ml media cair NB yang telah disterilisasi. Suspensi kultur bakteri uji kemudian dihomogenkan selama 24 jam menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang. *Optical Density* (OD) diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 558 nm hingga diperoleh jumlah pertumbuhan 1×10^8 sel bakteri/ml (Fardiaz, 1993).

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi ditentukan berdasarkan uji pendahuluan yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% (g/ml). larutan sampel dibuat dengan cara menimbang ekstrak kental kemangi masing-masing 0,2 g, 0,4 g, 0,6 g, 0,8 g, dan 1 g kemudian tiap konsentrasi diencerkan dengan pelarut DMSO 10% hingga volumenya 1ml. Kontrol positif menggunakan antibiotik *Thiamfenicol* sebanyak 0,025 g dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 1 ml, kontrol negatif menggunakan DMSO 10% sebanyak 1 ml.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktifitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi, menggunakan kertas saring berdiameter 6 mm. Media NA yang telah dipanaskan dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 20 ml kemudian didiamkan hingga membeku. Bakteri uji dengan nilai OD sebesar 0,6 generasi/jam diusapkan pada media Na yang telah membeku, metode ini dinamakan dengan metode swap.

Kertas cakram berdiameter 6 mm direndam dalam larutan ekstrak daun kemangi selama 15 menit, kemudian diletakkan pada permukaan media yang telah memadat. Media yang telah diisi sediaan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37° C, selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk pada jam ke-24 dan jam ke-48.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Berdasarkan hasil penelitian uji fitokimia dengan pereaksi yang berbeda menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi (*O. sanctum*) mengandung golongan senyawa metabolit sekunder, hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1. Golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol *O. sanctum* terdiri dari

flavonoid, minyak atsiri, dan tannin. Hal ini dapat dilihat dari perubahan yang terjadi pada ekstrak etanol *O. sanctum* yang telah diberikan larutan pereaksi.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*O. sanctum*)

No	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Perubahan	Hasil
1.	Alkaloid	Kloroform, meyer	Tidak terbentuk endapan putih	-
2.	Flavonoid	Magnesium (Mg), HCL pekat	Larutan berwarna kuning	+
3.	Minyak atsiri	Etanol 96%	Adanya bau khas daun kemangi	+
4.	Saponin	Akuades	Tidak terbentuk busa	-
5.	Steroid/ Terpenoid	CH ₃ COOH glasial, H ₂ SO ₄ pekat	Tidak terjadi perubahan warna biru atau merah	-
6.	Tanin	FeCl ₃ 5%	Larutan berwarna biru tua	+

Keterangan : (+) : Mengandung metabolit sekunder
 (-) : Tidak mengandung metabolit sekunder

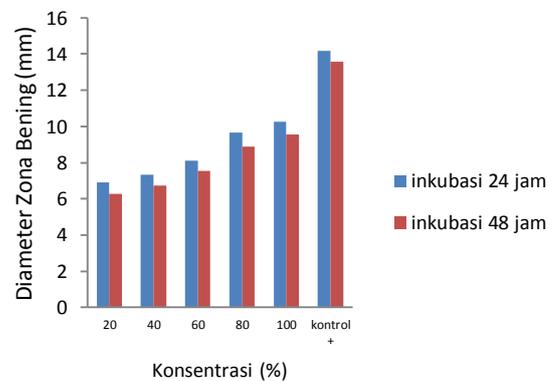
Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol *O. sanctum* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* menunjukkan adanya zona hambat. Uji ini dilakukan terhadap beberapa perlakuan konsentrasi ekstrak *O. sanctum* yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-).

Tabel 2. Nilai Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol *O. sanctum* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *E. coli*

Konsentrasi (%)	24 jam (mm)	Respon Hambat	48 jam (mm)	Respon Hambat
20	6,90 ^a	Sedang	6,28 ^a	Sedang
40	7,33 ^a	Sedang	6,74 ^{ab}	Sedang
60	8,12 ^b	Sedang	7,55 ^b	Sedang
80	9,65 ^c	Sedang	8,89 ^c	Sedang
100	10,26 ^c	Kuat	9,54 ^c	Sedang
Kontrol (+)	14,18 ^d	Kuat	13,57 ^d	Kuat
Kontrol (-)	-	-	-	-

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Tukey* pada taraf kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$)

Hasil uji *Tukey* ($F_{5,12} = 0,498$ dan $\alpha = 0,05$) menyatakan bahwa perbedaan masing-masing konsentrasi ekstrak yang diujikan pada bakteri *E. coli* menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Konsentrasi ekstrak 20% dan 40% menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan konsentrasi 60%, dan konsentrasi 60% berbeda nyata dengan konsentrasi 80% dan 100% dalam inkubasi 24 jam. Pada inkubasi 48 jam konsentrasi ekstrak 20%, 40%, dan 60% berbeda nyata dengan konsentrasi 80% dan 100%. Respon hambat pada bakteri *E. coli* adalah kategori sedang dan respon hambat kategori kuat terlihat pada inkubasi 24 jam dalam konsentrasi 100%. Pengukuran diameter zona hambat pada pengujian aktivitas ekstrak etanol *O. sanctum* terhadap pertumbuhan *E. coli* dilakukan pada inkubasi 24 jam dan 48 jam.



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak etanol *O. sanctum* terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* pada inkubasi 24 jam dan 48 jam

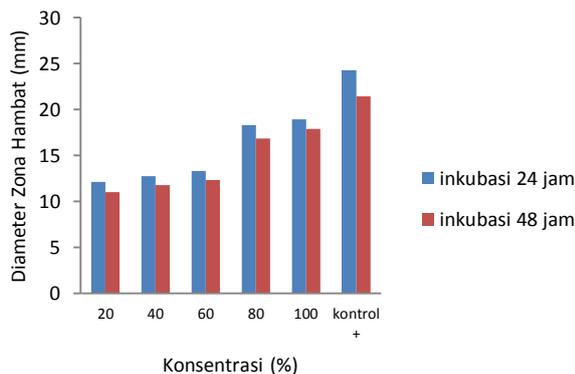
Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *O. sanctum* menunjukkan adanya pembentukan zona hambat terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S. aureus*.

Tabel 3. Nilai Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol *O. sanctum* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. Aureus*

Konsentrasi (%)	24 jam (mm)	Respon Hambat	48 jam (mm)	Respon Hambat
20	12,10 ^a	Kuat	10,99 ^a	Kuat
40	12,77 ^{ab}	Kuat	11,80 ^{ab}	Kuat
60	13,34 ^b	Kuat	12,34 ^b	Kuat
80	18,31 ^c	Kuat	16,88 ^c	Kuat
100	18,90 ^c	Kuat	17,89 ^c	Kuat
Kontrol (+)	24,29 ^d	Sangat Kuat	21,41 ^d	Sangat Kuat
Kontrol (-)	-	-	-	-

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji *Tukey* pada taraf kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$)

Berdasarkan hasil uji *Tukey* ($F_{5,12} = 0,498$ dan $\alpha = 0,05$) konsentrasi ekstrak etanol *O. sanctum* terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang diujikan menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Pada konsentrasi ekstrak 20%, 40%, dan 60% berbeda nyata dengan konsentrasi 80% dan 100%, baik dalam inkubasi 24 jam maupun 48 jam. Respon hambat pada bakteri *S. aureus* keseluruhan konsentrasi dikategorikan kuat.



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak etanol *O. sanctum* terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada inkubasi 24 jam dan 48 jam

Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak etanol *O. sanctum* menunjukkan terjadinya penurunan diameter zona hambat pada waktu inkubasi 48 jam.

Pembahasan

Aktivitas penghambatan *E. coli* dan *S. aureus* oleh ekstrak etanol *O. sanctum* dapat disebabkan oleh adanya pengaruh senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Pengujian fitokimia pada ekstrak etanol daun kemangi (*O. santum*) menunjukkan hasil yang positif untuk golongan senyawa tanin, flavonoid, dan minyak atsiri. Sedangkan metabolit sekunder menunjukkan hasil negatif adalah alkaloid, saponin, dan steroid/terpenoid. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan berbeda-beda karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Verpoorte dan Alfermann (2000) menyatakan bahwa metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit.

Faktor penggunaan pelarut juga dapat berpengaruh terhadap hasil metabolit sekunder yang didapat. Menurut Harbourne (1987) Golongan terpenoid/steroid merupakan senyawa

yang larut dalam pelarut non polar seperti *n*-heksan, sedangkan senyawa flavonoid dan tanin dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, etilasetat atau pelarut polar lainnya, dan golongan alkaloid termasuk senyawa yang tidak larut dalam air.

Senyawa tanin berperan sebagai antibakteri karena memiliki kemampuan membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen, jika terbentuk ikatan hidrogen antara tanin dengan protein maka protein akan terdenaturasi sehingga metabolisme bakteri menjadi terganggu (Makkar, 1993). Sedangkan mekanisme kerja Flavonoid dengan cara merusak membran sel bakteri pada bagian fosfolipid sehingga mengurangi permeabilitas yang mengakibatkan bakteri mengalami kerusakan (Kim *et al.*, 1995). Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap, minyak atsiri umumnya dibagi menjadi dua komponen yaitu golongan hidrokarbon dan golongan hidrokarbon teroksigenasi (Robinson, 1995). Menurut Heyne (1987) senyawa-senyawa turunan hidrokarbon teroksigenasi (fenol) memiliki daya antibakteri yang kuat.

Berdasarkan penelitian ini golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol *O. sanctum* terdiri dari flavonoid, minyak atsiri, dan tannin yang dapat memberikan efek antibakteri terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*. Menurut penelitian Ali dan Savita, (2008) dalam uji fitokimia ekstrak *O. sanctum* terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* didapatkan senyawa flavonoid, senyawa ini berperan sebagai antibakteri.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *O. sanctum* dengan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dan kontrol positif menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* yang ditandai terbentuknya zona hambat disekitar kertas saring. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terbentuk zona hambat pada kontrol negatif. Hal ini membuktikan tidak adanya pengaruh DMSO 10% terhadap pertumbuhan bakteri, sehingga aktivitas hanya berasal dari ekstrak bukan dari pelarut yang digunakan.

Berdasarkan hasil respon hambat kategori sedang menunjukkan adanya kemampuan *O. sanctum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan respon hambat kategori kuat terlihat pada konsentrasi 100% dalam inkubasi 24 jam. Respon

hambat pada bakteri *S. aureus* keseluruhan dikategorikan kuat. Hasil yang berbeda disebabkan karena kemampuan setiap bakteri dalam melawan aktivitas antibakteri berbeda tergantung pada ketebalan dan komposisi dinding selnya. Menurut Jawetz *et al.* (2005) Bakteri gram positif hanya terdiri dari dua lapisan yaitu lipopolisakarida dan protein dengan kandungan lipid sebesar 1% - 4%. Sedangkan pada bakteri gram negatif memiliki tiga lapisan peptidoglikan yang terdiri dari fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida dengan kandungan lipid sebesar 11% - 22%.

Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kandungan senyawa antibakteri, konsentrasi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Brooks *et al.*, 2007). Berdasarkan penelitian ini semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol *O. sanctum* menandakan semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat. Pelzcar dan Chan (1988) menyatakan hal yang sama yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi pula daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri. Grafik peningkatan diameter zona hambat pada setiap konsentrasi dalam inkubasi yang sama dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

Hasil analisis statistik terhadap diameter zona hambat menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata antara perlakuan ekstrak dengan kontrol positif *thiamfenicol*. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol *O. sanctum* tidak lebih baik dengan aktivitas antibakteri sintetik. Sedangkan hasil analisis tiap perlakuan terhadap diameter zona hambat berbeda. Diameter zona hambat terbesar diperoleh pada perlakuan konsentrasi 100% yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 80% dan pada perlakuan konsentrasi 100% hasil yang didapat berbeda signifikan dengan perlakuan kontrol positif.

Berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2013), diameter zona hambat dari *thiamfenicol* masih tergolong sensitif, karena *thiamfenicol* bekerja dalam menghambat sintesa protein bakteri dengan menekan aktivitas enzim yang mengkatalisa pembentukan ikatan peptida protein bakteri, selain itu *thiamfenicol* mempunyai sifat bakteriostatik. Dalam penelitian ini terjadi penurunan diameter zona hambat kontrol positif

pada inkubasi 24 jam hingga 48 jam, sama halnya pada setiap konsentrasi ekstrak yang di ujikan juga memiliki sifat bakteriostatik.

Penurunan diameter zona hambat dari inkubasi 24 jam sampai dengan inkubasi 48 jam diduga akibat adanya viskositas ekstrak yang dapat mempengaruhi kemampuan berdifusi ekstrak kedalam media agar sehingga mempengaruhi daya hambat. Menurut Priyatmoko (2008), semakin tinggi viskositas maka proses difusi zat antibakteri kedalam media agar semakin rendah. Penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2010) menggunakan ekstrak rhizoma Alang-alang (*Imperata cylindrical*) juga menunjukkan terjadi penurunan diameter zona hambat yang bersifat bakteriostatik, karena zat antibakteri hanya menghambat pertumbuhan bakteri tapi tidak seluruhnya membunuh koloni bakteri.

Perlakuan konsentrasi ekstrak etanol *O. sanctum* 100% tidak berbeda secara signifikan terhadap perlakuan konsentrasi ekstrak 80%, sehingga diduga bahwa konsentrasi ekstrak 80% merupakan konsentrasi yang optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini karena konsentrasi ekstrak yang lebih kecil mampu menimbulkan aktivitas antibakteri yang tidak berbeda signifikan dengan aktivitas antibakteri yang ditimbulkan oleh konsentrasi tertinggi. Berdasarkan hasil pengamatan dapat dilihat bahwa ekstrak etanol *O. sanctum* yang diujikan terhadap bakteri *S. aureus* memiliki zona hambat yang besar dibandingkan terhadap bakteri *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol *O. sanctum* lebih berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dibandingkan dengan penghambatan terhadap gram negatif. Menurut Noorhamdani *et al.* (2011) menggunakan ekstrak etanol daun selasih (*Ocimum basilicum*) menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak daun selasih lebih baik digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, R, 2011, *Aktivitas Antimikroba Madu dari Lebah Apis dorsata dan Apis Mellifera Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*, skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak

- Ali, H & Savita, D, 2012, 'In Vitro Antimikrobia Activity Of Flavonoids Of *Ocimum sanctum* with Synergistic Effect of Their Combined Form', *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*
- Brooks, GF, Butel, JS & Morse, SA, 2007, Mikrobiologi Kedokteran, Edisi 23 EGC, Jakarta
- Clinical & Laboratory Standards Institute, 2013, M100-S23 Performances standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third Informational Supplement, vol.33 no.1 hal. 44-48
- Fardiaz, S, 1993, Analisis Mikrobiologi Pangan, Raja Grafindo Persada Press, Jakarta
- Hadipoenyanti, E & Wahyuni, S, 2008, Keragaman Selasih (*Ocimum* Spp.) Berdasarkan Karakter Morfologi, Produksi dan Mutu Herba, halaman 141-148
- Harbourne, JB, 1987, Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan II, Bandung Penerbit ITB, halaman 6 dan 7
- Heyne, K, 1987, Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid 3, Departemen Kehutanan, Jakarta
- Irianto, K, 2006, *Mikrobiologi, Menguk Dunia Mikroorganisme* Jilid 2, CV. Yrama Widya. Bandung
- Jawetz, E, JL Melnick, EA & Adelberg, 1986, A Small Scale Approach to Organic Laboratory Techniques, Third Edition, Brooks/Cole Laboratory Series, USA, Halaman 368
- Kim, JM, Marshall, MR, Cornell, JA & Boston, W, 1995, antibacterial Activity of Carvacrol, Citral and Geraniols Against *Salmonella typhimurium* in Culture Medium and on Fish Cubes, *J Food Sci*, 69 (6): 1365-1366
- Makkar, 1993, Gravimetric Determination Of Tannins and Their Correlation With Chemical and Protein Precipitation Methods. *Journal of The Science of Food and Agriculture*. 61:161-165
- Noorhamdani, AS, Tantari S & Prita AN, 2011, Uji Efektivitas Daun Selasih (*Ocimum basilicum* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, *Jurnal*
- Oktalia, 2009, Kapita Selekta Dispensing I, UGM Press, Yogyakarta, Halaman 27
- Pelczar, MJ & Chan, ECS, 1988, Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1 dan Jilid 2. Diterjemahkan oleh, Hadjiootema, R. S., T. Imas, S. S. Tjitrosomo, S. I. Angka. UI Press, Jakarta
- Priyatmoko, W, 2008, Aktivitas antibakteri karang lunak hasil transplantasi (*Sinularia* Sp.) pada dua kedalaman berbeda di perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu, Dki Jakarta. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Sudarsono, Gunawan D, Wahyuono S, Donatus IA & Purnomo, 2002, Tumbuhan Obat II (Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaannya), Pusat Studi Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada, Jakarta, Halaman 136-140
- Rahmawati, R, 2010, Uji aktivitas antibakteri ekstrak methanol rhizoma Alang-alang (*Imperata cylindrical* [L.] Beauv) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak
- Robinson, T, 1995, Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Penerjemah Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung
- Verpoorte, R & Alfermann, AW, 2000, Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Springer. Finlandia