

# **KOMBINASI ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DARI TANAMAN HERBAL TERHADAP *Escherichia coli***

**Novi Elisa\***

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

Email: [Novieliza737@gmail.com](mailto:Novieliza737@gmail.com)

## **ABSTRAK**

Pengobatan penyakit diare dapat menggunakan obat modern maupun tradisional yang dikombinasikan. Daun kemangi dan batang sereh adalah tanaman yang bekerja sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Daun kemangi dan batang sereh didestilasikan secara terpisah dengan metode uap dan air. Hasil destilasi dibuat kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh dengan perbandingan kombinasi (1:1; 1:2; 2:1; 1:3; 3:1). Metode uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini adalah metode difusi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Varians (ANOVA) satu jalur.

Hasil uji metode difusi kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh yang paling efektif ialah pada perbandingan 1:1 dengan diameter rata-rata  $20,68 \pm 0,850$ . Hasil penelitian kandungan kimia minyak atsiri daun kemangi adalah Z-citral dan 2,6-oktadienal. Senyawa terbesar dari minyak atsiri batang sereh adalah Z-citral dan Beta myrecene yang merupakan senyawa berpotensi sebagai antibakteri.

**Kata kunci : *Escherichia coli*, Antibakteri, Minyak atsiri, Tanaman Herbal**

## **PENDAHULUAN**

Penyakit pada gangguan pencernaan yang terjadi pada usus dapat menimbulkan penyakit salah satunya yaitu diare. Diare adalah suatu keadaan yang frekuensi dan konsistensinya melebihi frekuensi normal dengan konsistensi feses yang encer. Bakteri penyebab diare salah satunya adalah *Escherichia coli* merupakan bagian terbesar flora normal usus besar kuman manusia (Broto 2006).

Indonesia kaya akan berbagai jenis tumbuhan obat minyak atsiri dikenal dengan istilah minyak mudah menguap merupakan senyawa yang umumnya berwujud cairan,

diperoleh dari bagian tanaman akar, kulit, batang, daun, buah, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan. Minyak atsiri diperoleh secara destilasi (Sastrohamidjojo 2004).

Tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.form *citrantum* back) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki banyak manfaat. Kemangi 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* seperti senyawa alkaloid, minyak atsiri dan fenol. Sifat dari penghambatan ini disebut sebagai bakterostatik atau bakteriosida (Hadipoentyanti dan Wahyuni 2008). Penyebab penyakit yang banyak diderita oleh masyarakat kuman penyebab diare oleh bakteri *Escherichia coli* (Oktalia 2009).

Sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) adalah salah satu tanaman penghasil minyak atsiri. Kandungan kimia yang terdapat pada minyak atsiri sereh geranial, neral dan mirsen. Senyawa tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri sereh memiliki aktifitas antibakteri pada gram positif dan gram negatif. Sereh salah satu tanaman berkhasiat obat yang digunakan oleh masyarakat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit flu, batuk, kangker, minyak atsiri sereh bersifat sebagai anti bakteri, sehingga juga bisa digunakan sebagai obat kumur (Duke 2008). Efek minyak atsiri sereh terhadap mikroorganisme patogen yang berbeda dan didapatkan hasil bahwa seluruh variasi tanaman sereh tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan *Escherichia coli* (Leiman 2008).

Menurut Jawetz (2001) bila dua agen antimikroba bekerja secara bersama pada populasi mikroba yang homogen maka efek dapat berupa sinergisme, artinya kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kedua efek. Berdasarkan uraian tersebut penelitian ini akan mengkombinasikan minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh, untuk mengetahui aktivitas dari minyak atsiri tanaman tersebut yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922 dengan menggunakan metode difusi dan dilusi.

## **METODE PENELITIAN**

### **A. Alat dan Bahan**

Bahan media yang digunakan dalam penelitian adalah *Braint Heart Infusion* (BHI), Endo agar, KIA, LIA, SIM, sitrat, *Mueller Hinton Agar* (MHA). Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, NaCl fisiologi, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, tween 80, larutan standar Mcfarland 0,5, anisaldehyda-asam sulfat, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaCl, reagen Ehrlich A dan B, reagen Gram A, Gram B, Gram C, dan Gram D.

Alat-alat yang digunakan meliputi tabung reaksi, rak tabung reaksi, obyek glass, cawan petri, erlemeyer, gelas ukur, ose platina, inkas, timbangan, pipet tetes, pipet volume, saring, incubator, pinset, kapas, Bunsen, corong kaca, corong pisah, oven, refraktometer dan seperangkat alat destilasi uap air. Lampu spirtus, korek, penggaris, sepidol permanen

### **B. Metode penelitian**

#### **1. Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh**

Daun kemangi dan batang sereh yang sudah dipetik masing-masing ditimbang, dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu, dirajang, lalu dilakukan destilasi uap air sampai dihasilkan tetesan minyak atsiri, dari daun kemangi dan sereh sampai minyak atsiri tidak menetes lagi (Harun 2010).

#### **2. Pemeriksaan organoleptis minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh**

Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian diamati dan dibandingkan dari aspek bentuk, warna, aroma, dan rasa.

#### **3. Identifikasi minyak atsiri**

Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh dengan kertas saring Minyak atsiri secara tunggal ditetaskan dalam kertas saring kemudian dilihat jika ada noda lemak berarti ada bekas dikertas saring tunggu sampai kering. Minyak atsiri daun kemangi dan sereh dilakukan secara tunggal masing-masing ditambah sudan II maka akan berubah menjadi warna merah kemudian ditetaskan dalam permukaan air maka akan menyebar diatas permukaan air.

#### **4. Penetapan indeks bias minyak atsiri**

Minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh diperiksa indeks bias dengan satu kali pengulangan menggunakan refraktometer dengan cara sebagai berikut, badan prisma dibuka kemudian dibersihkan dengan kapas yang dibasahi dengan alkohol. Mengatur refraktometer sehingga skala nampak jelas, mencatat temperatur ruang tempat bekerja kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Pemutar sebelah kanan diputar sehingga batas gelap dan terang tepat pada satu garis silang kemudian membaca skala dan mencatat sebagai indeks bias.

#### **5. Penetapan berat jenis minyak atsiri**

Menimbang botol kosong, dimasukkan 1 ml minyak atsiri kedalam botol timbang. Menimbang minyak atsiri dan botol timbang dengan teliti dan akurat, kemudian dihitung bobot jenis minyak atsiri tersebut. Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan minyak atsiri dengan bobot air pada suhu dan volume sama.

#### **6. Identifikasi minyak atsiri**

Minyak atsiri daun kemangi dan sereh secara tunggal diteteskan dalam gelas ukur secukupnya kemudian diteteskan alkohol secukupnya secara bertahap jika jernih maka larut dalam alkohol.

#### **7. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh secara GC-MS**

Pertama, minyak atsiri daun kemangi kemudian diuji menggunakan GC-MS (Gas kromatografi dan spektromassa). Kromatogram GC-MS minyak atsiri daun kemangi yang telah dilakukan dengan uji destilasi kemudian diuji dengan kromatogram GC-MS komponen senyawa kimia utama minyak atsiri kemangi dianalisis senyawa aktif untuk mengetahui kandungan minyak atsiri identifikasi menggunakan GC-MS di Fakultas Farmasi, Laboratorium MIPA, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Minyak atsiri sereh dilakukan GC-MS di Laboratorium Terpadu, UIN Sunan Kalijaga, Yogyakarta

#### **8. Sterilisasi alat dan bahan**

Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, karena uap panasnya efektif untuk sterilisasi medium. Alat-

alat dengan gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170 °C - 180 °C selama 2 jam.

Alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Suriawiria 1989).

## **9. Identifikasi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922**

### **a. Identifikasi berdasarkan koloni.**

Suspensi bakteri diinokulasi pada media *Endo Agar* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Hasil positif dikatakan bila penampakan koloni merah dengan logam kilau yang permanen dan warna medium merah violet (Volk & Wheller 1988).

### **b. Identifikasi mikroskopis secara morfologi.**

Pewarnaan gram untuk memastikan bahwa bakteri tersebut golongan Gram negatif. Gram negatif didapatkan bila bakteri berwarna merah, bentuk bacili berarti positif golongan *Escherichia coli*. Penetesan kristal violet (Gram A) menyebabkan kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan bakteri Gram positif dan negatif. Penetesan mordant (*lugol.s iodine*/Gram B) menyebabkan adanya ikatan CV dengan iodine yang akan meningkatkan aktifitas pengikatan zat warna oleh bakteri. Pada Gram positif dapat terbentuk CV iodine-ribonukleat pada dinding sel. Penetesan gram C (alkohol 96%) menyebabkan pori-pori pada Gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larutan dalam etanol), sehingga kompleks CV-*iodine* tidak menempel di dinding sel, menyebabkan sel gram negatif berwarna bening. Penetesan *counterstain* (safari/Gram D), safari akan mewarnai sel gram negatif menjadi wana merah (Volk dan Wheller 1988).

### **c. Uji biokimiawi.**

Pertama uji biokimia SIM (*Sulfide Indol Motility*). Biakan bakteri ditanaman pada media SIM dengan cara tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Kedua uji KIA (*Kliger's Iron Agar*) pengujian media KIA dilakukan pengamatan pada bagian lereng, dasar, ada tidaknya gas dan terbentuk warna hitam. Biakan bakteri diinokulasi secara tusuk gores kemudian diinkubasi selama 24 jam suhu 37 °C.

Ketiga uji LIA (*Lysin Iron Agar*). Pengujian media LIA dilakukan pengamatan pada bagian lereng, dasar dan adanya sulfida. Biakan bakteri ditanamkan pada bagian media LIA yang akan diamati dengan cara inokulasi tusuk dan gores, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Keempat uji citrat. Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C (Volk & Wheeler 1988).

#### **d. Pembuatan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh**

Minyak atsiri daun kemangi dan sereh yang sudah didestilasi uap air dikombinasikan dengan perbandingan pertama, minyak atsiri kemangi 0.5 dan minyak atsiri sereh 0.5 dengan perbandingan (1:1). Kedua, minyak atsiri kemangi 0.33 dan minyak atsiri sereh 0.67 dengan perbandingan (1:2). Ketiga, minyak atsiri kemangi 0.25 dan minyak atsiri sereh 0.75 dengan perbandingan (1:3). Keempat, minyak atsiri kemangi 0,67 dan minyak atsiri sereh 0,33 dengan perbandingan (2:1). Kelima, minyak atsiri kemangi 0,75 dan minyak atsiri sereh 0,25 dengan perbandingan (3:1).

### **10. Pengujian antibakteri**

Kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh hasil destilasi uap air diuji dengan Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Pertama, metode difusi. Penelitian ini menggunakan dua cawan petri. Pertama bakteri diambil dari media MHA sebanyak 50 ml kemudian dituangkan pada cawan petri diratakan oleskan bakteri sampai merata.

Cawan petri pertama, berisi 5 cakram dengan diameter cakram 6 mm kombinasi 1:1, kedua berisi kombinasi 1:2, ketiga berisi kombinasi 2:1, keempat berisi kombinasi 1:3, kelima berisi kombinasi 3:1.

Cawan petri kedua, berisi 3 cakram dengan diameter cakram, tunggal dari minyak atsiri kemangi, tunggal dari mintak atsiri sereh dan kontrol (+) kotrimoksazol, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C. Amati Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh dilihat pada tabel 1

Tabel 1. Hasil Rendemen minyak atsiri

Sampel	Bobot sampel (gram)	Volume minyak	Rendemen (%)
Kemangi	5000	10,00	0,20
Sereh	4000	10,40	0,26

Kadar minyak atsiri kemangi yang diperoleh dalam praktik 0,20% dan kadar minyak atsiri batang sereh 0,26%

Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh hasil pemeriksaaan dapat dilihat pada table 2

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptic

Minyak asiri	Bentuk	Warna	Aroma	Rasa
Kemangi	Larutan	kuning muda	Aromatik	Hambar menyengat, wangi
Sereh	Larutan	Kuning tua	Aromatik	Pedas, wangi

Bentuk, warna, aroma, rasa masing-masing memiliki khas seperti pada tanaman asalnya.

## Hasil Identifikasi minyak atsiri

**Tabel 3. Hasil identifikasi minyak atsiri dengan kertas saring dan sudan II**

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri daun kemangi dan sereh.	Secara tunggal minyak atsiri kemangi dan sereh. 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring.	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Sesuai dengan pustaka (Gunawan dan Mulyani 2004).
Minyak atsiri dengan sudan II	Ditetesi dalam permukaan air akan menyebar.	Hasil menyebar dalam permukaan air	Sesuai dengan pustaka (Gunawan dan Mulyani 2004).

## Hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri daun kemangi dan sereh.

**Tabel 4. Hasil pemeriksaan indeks bias**

Indeks bias minyak atsiri pada suhu 25°C	Pustaka
Minyak atsiri daun kemangi 1,577 Minyak atsiri batang sereh 1,565	Indek bias minyak atsiri daun kemangi (20°C) 1,512-1,519 (Depkes 1970) dan batang sereh (20°C) 1,559-1,597 (Depkes 2006)

Pemeriksaan indek bias dilakukan dengan refraktometer dan didapatkan hasil menurut penelitian minyak atsiri daun kemangi 1,577 dan minyak atsiri batang sereh 1,565 pada suhu 25 °C.

Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh dapat dilihat tabel 5.

Tabel 5. Hasil pemeriksaan bobot jenis

Bobot timbang air	Berat minyak (g)		Rata-rata Bobot jenis (%)	
	Kemangi	Sereh	Kemangi	Sereh
<b>36,89</b>	10,25	10,36	1,190	1,203
<b>36,85</b>	9,41	10,42	1,196	1,214
<b>36,79</b>	10,35	9,78	1,199	1,190
		Rata-rata	1,161	1,202

Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri. Hasil dari penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri sereh. Bobot jenis menurut praktik minyak atsiri

kemangi = 1,161. Bobot jenis menurut praktik minyak atsiri sereh 1,202. Jadi bobot jenis menurut praktik setara dengan bobot jenis menurut pustaka.

Hasil penetapan kelarutan dalam alkohol 70% dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. kekeruhan dalam alkohol 70%

Bagian simplisia	Volume minyak asiri	Volume alkohol 70%	Kelarutan dalam alkohol 70%
Daun kemangi	1 tetes	3 tetes	1:3 jernih
Sereh	1 tetes	3 tetes	1:3 jernih

Minyak atsiri daun kemangi dan sereh secara tunggal ditetesi dalam gelas ukur secukupnya kemudian ditetaskan alkohol secukupnya secara bertahap jika jernih maka larut dalam alkohol.

Hasil identifikasi senyawa minyak atsiri dengan GCMS dapat dilihat pada tabel 7 dan 8.

**Tabel 7. Senyawa minyak atsiri kemangi**

No	Senyawa	RT (min)	Luas Area	BM
1	5-Heptana	11.400	2,03	126
2	1,6-oktatrien	14.025	0,27	136
3	Linalool	15.829	3,54	154
4	Z-citral	20,383	32,79	152
5	2,3,6-Oktadienal	21,417	43,43	154
6	beta.-Caryophyllene	25.767	2,39	204

**Tabel 8. Senyawa minyak atsiri serih**

No	Senyawa	RT (min)	Luas Area	BM
1	Beta myrecene	4.690	4,15	136
2	Linalool	6.598	0,74	154
3	Garanyl acetate	7.801	1,44	124
4	2,6 oktadien	9,642	0,47	182
5	Z-citral	9,645	39,91	138
6	1H-siklopropa (e) azulena	16,702	3,32	204

Hasil minyak atsiri daun kemangi adalah Z-citral dan 2,6-oktadienal senyawa komponen utama minyak atsiri daun kemangi yang terbesar merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dan hasil komponen yang terbaik. Komponen utama minyak atsiri batang serih adalah Z-citral, Beta myrecene, 1H-siklopropa (e) azulena senyawa komponen utama minyak atsiri batang serih sesuai dengan pustaka (Andrian 2000).

### Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* yang diinokulasi medium endo agar setelah diinokulasi selama 24 jam suhu 37°C. Hasil pengamatan koloni yang dihasilkan berwarna merah dengan logam kilauan laktosa - positif permanen disebabkan karena reaksi penengahnya yaitu asetaldehida dengan Na-dulfiat.

### Hasil identifikasi mikroskopik bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922

Identifikasi ini dilakukan dengan pewarnaan Gram A, B, C dan D. Pewarnaan dilakukan untuk meyakinkan bahwa bakteri *Escherichia coli* golongan Gram negatif. Didapat bila sel bakteri berwarna merah, bentuk bacilli berarti positif golongan *Escherichia coli*.

### Hasil identifikasi Biokimia *Escherichia coli* ATTC 25922

**Tabel 9. Hasil uji biokimia**

Pengujian	Hasil	Pustaka (Volk dan Wheller 1988)
SIM	+++	+++
KIA	A/AGS (-)	A/AGS (-)
LIA	K/KS (-)	K/KS (-)
Citrat	-	-

SIM, uji sulfida positif bila medium berwarna hitam, uji indol positif bila berbentuk warna merah setelah pertumbuhan reagen erlich, uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media. KIA, adanya warna kuning pada bagian lereng dan pada bagian dasar, pertumbuhan adanya media yang pecah atau terangkat keatas menunjukkan adanya gas, warna media yang tidak berubah warna hitam menunjukkan uji sulfida negatif. LIA, adanya perubahan warna merah, coklat, ungu atau kuning pada bagian lereng dan dasar media LIA melihatkan uji sulfida positif. CITRAT, bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan citrate sebagai karbon tunggal uji positif bila media berwarna biru.

**Diameter daya hambat minyak atsiri tunggal dan kombinasi dari daun kemangi dan batang sereh dengan metode difusi**

**Tabel 10. Diameter hambat minyak atsiri secara difusi**

Konsentrasi 100%	Diameter daerah hambat ( mm)				Rata-rata	SD
	I	II	III	IV		
Kotrimoksazol	28,0	35,0	35,0	30,0	29.50	3.5590
Daun	27,0	30,0	26,0	23,0	26.50	2.8868
Kemangi	26,0	28,0	25,0	28,0	26.75	1.5342
Batang sereh	20,0	21,75	20,0	21,0	20,68	0.8508
1:1	15,0	12,5	15,0	11,0	13,37	1.8287
1:2	19,5	18,0	14,0	14,0	16,37	2.8099
1:3	10,0	17,0	16,0	15,0	14,50	3.1091
2:1	16,0	12,0	16,0	10,75	13,68	2.7185
3:1						

Hasil dari metode difusi dari, konsentrasi terbaik dengan hasil paling efektif adalah 1:1 (0,5 : 0,5) dengan nilai rata-rata terbaik dari kombinasi 1:1 20,68±0,850. Analisa hasil SPSS test homogenitas dengan diameter hambat minyak atsiri signifikan 0,077 artinya 0,077 > 0,05 hasil test homogenitas signifikan. Hasil diameter hambat dilihat dari ANOVA signifikan 0,000. Hasil LSD nilai 1:1 ada perbedaan yang menunjukkan bahwa konsentrasi 1:1 > 0,05 terdeferensial signifikan.

Analisa hasil statistik menunjukkan konsentrasi terbaik 1:1 dimana konsentrasi 1:1 memiliki diameter hambat terbesar dari konsentrasi kombinasi lainnya. Dari GCMS senyawa yang mampu menghambat uji aktivitas antibakteri senyawa terbesar dari minyak atsiri daun kemangi Z-citral dan 2,6-oktadienal. Senyawa terbesar dari minyak atsiri batang sereh Z-citral, Beta myrecene, 1H-siklopropa (e) azulena senyawa ini yang mampu menghambat uji aktivitas antibakteri (Andria 2000).

Aktivitas antibakteri minyak atsiri diduga disebabkan adanya senyawa gugus alkoholik dan fenolik. Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antimikroba karena adanya gugus OH yang bersifat racun terhadap antimikroba dan semakin banyak gugus OH yang pada senyawa tersebut maka senyawa tersebut semakin menyebabkan kerusakan sel sehingga mikroba akan mati (Cowan 1999).

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. Kesimpulan**

Hasil uji difusi yang paling efektif dari konsentrasi tunggal minyak atsiri sereh dengan diameter hambat  $26,75 \pm 1,5342$  dan hasil uji kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh yang paling efektif 1:1 (0,5:0,5) dengan diameter hambat  $20,68 \pm 0,8508$ .

## DAFTAR PUSTAKA

- Andrian Agusta. 2000. *Minyak atsiri tumbuhan tropika Indonesia*. Bandung: ITB hlm. 44-45, 113.
- Cowan M.M. 1999. *Plant Product and antimicrobial agents*. *J. Mikrobiologi*. Bandung: ITB. *Reviews* 612 (4). Hlm. 564-582.
- [Depkes RI 1970] *Indeks Bias Tanaman, minyak atsiri kemangi*. Yogyakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- [Depkes RI 2001] *Dasar-dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*. Yogyakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- Duke J, 2008. *Cymbopogon citratus Species Activity Information*. *Phytochemical and Ethnobotanical Database*. Semarang: Fakultas Kedokteran Gigi Unisulla.
- Jawetz. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Mulyani S. Gunawan D. 2004. *Ramuan Tradisional untuk Penderita Asma*. *Cetakan ke-5*. Jakarta: Penebar Swamedya Hlm 151-152
- Oktalia. 2009. *Kapita Selekta Dispensing I*. Yogyakarta: UGM Press. Halaman 27.
- Sastrohamidjojo H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

