

Zona hambat ekstrak etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Rahmi Wastri¹, Ame Suciati Setiawan^{1*}, Dani Rizali Firman¹, Diani Prisinda², Fajar Fatriadi²

¹Departemen Oral Biologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Indonesia

²Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Indonesia

*Korespondensi: ame.suciati@fkg.unpad.ac.id

Submisi: 27 Juli 2020; Penerimaan: 27 April 2020; Publikasi online: 20 April 2021

DOI: [10.24198/jkg.v3i2.28836](https://doi.org/10.24198/jkg.v3i2.28836)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) merupakan bakteri yang persisten pada saluran akar gigi, sehingga dapat menyebabkan infeksi sekunder pada saluran akar gigi yang telah diobturasi. Bahan irigasi dan medikamen harus diberikan pada saluran akar gigi untuk menunjang keberhasilan perawatannya. Daun kemangi (*Ocimum basilicum/O. basilicum*) merupakan tanaman obat tradisional yang diketahui memiliki potensi antibakteri dan berpeluang untuk dikembangkan sebagai bahan irigasi saluran akar gigi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui zona hambat ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* terhadap *E. faecalis* ATTC 29212. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental laboratori. Pengujian zona hambat ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* yang diperoleh dari proses maserasi dilakukan dengan metode difusi cakram dengan menggunakan klorheksidin 0,1% sebagai kontrol positif dan dilakukan tiga kali pengulangan terhadap *E. faecalis* ATCC 29212. Ekstrak pekat dilarutkan menggunakan DMSO 10% dan dilakukan pengenceran dua tingkat sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 512.000 – 1.000 ppm. **Hasil:** Ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* pada konsentrasi uji 512.000 ppm telah memperlihatkan zona abu-abu seluas 1 mm di luar cakram uji, sementara konsentrasi uji lainnya tidak memperlihatkan adanya penghambatan. Beragam faktor dalam penelitian ini dapat mempengaruhi hasil pengujian, diantaranya adalah kelarutan ekstrak uji dalam pelarut yang digunakan, prosedur sebelum ekstraksi, dan keterbatasan metoda pengujian. **Simpulan:** Ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* tidak memiliki zona hambat terhadap *E. faecalis* ATTC 29212.

Kata kunci: *Ocimum basilicum*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, zona hambat.

Inhibition zone of ethyl acetate extract of basil leaves (*Ocimum basilicum*) against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

ABSTRACT

Introduction: *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) is a bacteria that persist in root canals, cause secondary infection in obturated root canals. Irrigation material and medicament must be administered to the root canal to support the treatment success. Basil leaves (*Ocimum basilicum/O. basilicum*) is a traditional medicinal plant known with antibacterial potential and has the opportunity to be developed as a root canal irrigation agent. This study was aimed to determine the inhibition zone of the ethyl acetate extract of *O. basilicum* leaves against *E. faecalis* ATTC 29212. **Methods:** This study was an experimental laboratory. The inhibition zone test of the ethyl acetate extract of *O. basilicum* leaves obtained from the maceration process was conducted with the disc diffusion method using 0.1% chlorhexidine as a positive control and three replications *E. faecalis* ATCC 29212. The concentrated extract was dissolved using 10% DMSO, and two dilution levels were carried out to obtain an extract concentration of 512,000 - 1,000 ppm. **Results:** The ethyl acetate extract of *O. basilicum* leaves at the test concentration of 512,000 ppm showed a grey zone of 1 mm outside the test disc, while other test concentrations did not show any inhibition. Various factors in this study can affect the test results, including the solubility of the test extract in the solvent used, the procedure before extraction, and the limitations of the test method. **Conclusion:** *O. basilicum* leaf ethyl acetate extract had no inhibition zone against *E. faecalis* ATTC 29212.

Keywords: *Ocimum basilicum*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, zone of inhibition.

PENDAHULUAN

Persistensi bakteri pada saluran akar dapat menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar gigi.¹ Kegagalan karena infeksi sekunder pada saluran akar disebabkan oleh *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) dengan prevalensi sekitar 22–77%.² *E. faecalis* merupakan bakteri Gram positif, fakultatif anaerob, mampu berpenetrasi ke dalam tubulus dentin sehingga resisten terhadap medikamen intrakanal, dan dapat bertahan hidup di dalam saluran akar yang telah diobturasikan.^{3,4,5,6,7,8}

Klorheksidin (CHX) gluconat digunakan secara luas untuk irigasi perawatan saluran akar dan merupakan *golden standard* untuk antiseptik di rongga mulut yang terkenal dengan efek antibakteri berspektrum luas, memiliki efek dalam jangka waktu lama, dan memiliki tingkat toksisitas yang rendah.^{2,4,9,10,11} Gel klorheksidin 2% diketahui efektif untuk menghilangkan *E. faecalis*, serta dengan konsentrasi 0,2% dalam bentuk larutan, klorheksidin mampu menghambat reaksi ulang dari *E. faecalis* dalam jangka waktu 3 minggu, tetapi klorheksidin memiliki kemampuan terbatas untuk berpenetrasi ke dalam tubulus dentin dan tidak memiliki kemampuan untuk melarutkan jaringan nekrotik.^{4,8,10,12}

Kemangi (*Ocimum basilicum/O. bacilicicum*) merupakan tanaman asli daerah tropis Asia yang umum digunakan sebagai bumbu masakan dan tanaman hias.^{13,14,15,16,17,18} Makade, et al.¹⁹ menjelaskan bahwa minyak esensial *O. bacilicicum* telah digunakan sejak lama untuk pengobatan dan pencegahan penyakit gigi dan mulut karena memiliki daya antibakteri. Vlase, et al.¹⁴ menyatakan ekstrak *O. bacilicicum* memiliki daya antibakteri sedang terhadap bakteri Gram positif dan lemah terhadap bakteri Gram negatif. Salah satu bakteri Gram positif yang diharapkan dapat dihambat oleh *O. basilicum* adalah *E. faecalis*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi antibakteri ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* dengan mengetahui zona hambatnya terhadap *E. Faecalis* agar dapat dijadikan sebagai bahan pilihan dalam perawatan saluran akar gigi.

METODE

Penelitian ini adalah eksperimental laboratori, yang dilakukan untuk mengetahui

zona hambat ekstrak etil asetat daun kemangi (*O. basilicum*) terhadap *E. faecalis* ATCC 29212. Penelitian dilakukan pada bulan Februari – April 2019 di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran. Sampel *O. basilicum* diperoleh dari daerah Lembang, Kabupaten Bandung Barat, Indonesia, serta telah diidentifikasi dan dideterminasi di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung (SITH ITB).

Alat yang digunakan merupakan alat laboratorium yang telah terstandar untuk penelitian, seperti autoklaf, *beaker glass*, botol kaca steril kedap udara, *candle jar*, cawan petri, *cotton swab*, inkubator, jangka sorong, lampu spiritus, maserator, *micropipette*, *microtube*, oese, *paper disc*, *parafilm*, pinset, *rotary evaporator*, spatula, *spectrophotometer*, tabung reaksi, timbangan, dan *vortex mixer*. Bahan dan pelarut yang digunakan merupakan bahan yang telah terstandar untuk penelitian, seperti aquades, bubuk Agar *Bacteriology* 2%, bubuk *Muller-Hinton Broth*, Dimetil sulfoxida (DMSO) 10%, etanol 70%, klorheksidin 0,1%, dan pelarut etil asetat redestilasi.

Ekstrak etil asetat daun *O. basilicum*. Sampel *Ocimum basilicum* yang diperoleh, dicuci bersih dan dikeringkan di rumah kaca Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung (SITH ITB) dan dihaluskan hingga menyerupai serbuk kasar. Sampel kering ditimbang dan didapat 109 gram, kemudian dilakukan maserasi dengan 3,5 liter pelarut etil asetat redestilasi menggunakan maserator selama 24 jam. Ekstrak yang didapat setelah 24 jam disaring menggunakan kain saring sampai menghasilkan ekstrak encer dan ampas. Pelarut baru ditambahkan kembali ke dalam ampas yang sudah dimasukkan kembali ke dalam maserator. Prosedur dilakukan beberapa kali hingga pelarut yang keluar dari maserator tidak menimbulkan pewarnaan. Ekstrak encer dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak pekat kemudian disimpan pada botol kaca kedap udara yang telah disterilisasi. Metode ekstraksi merujuk kepada tinjauan Azwanida.²⁰

Media. Bubuk *Mueller Hinton Broth* (MHB) sebanyak 2,1 gram ditambahkan dengan bubuk Agar *Bacteriology* 2% sebanyak 2 gram dan dilarutkan dalam 100 ml aquades untuk membuat media agar. Media disterilisasi dengan autoklaf selama 2 jam pada suhu 121°C, lalu dilakukan

pencetakan agar pada cawan petri steril. Bubuk *Mueller Hinton Broth* (MHB) sebanyak 2,1 gram dilarutkan dalam 100 ml aquades untuk membuat media cair (*broth*). Media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 2 jam. Prosedur di atas merujuk kepada petunjuk Oxoid Agar Bacteriological (Agar No.1) dan Sigma-Aldrich Mueller Hinton Broth.^{21,22}

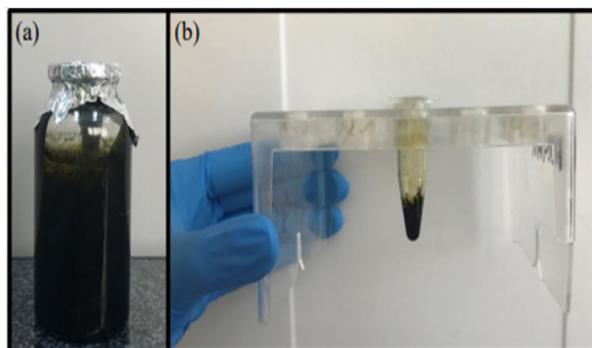
Pengujian zona hambat. Penelitian ini dilakukan terhadap *E. faecalis* ATCC 29212 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Eyckman Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Kultur bakteri dibiakkan pada *Mueller-Hinton Agar* yang telah diinkubasi dalam suasana anaerob selama 48 jam dalam suhu 37°C. Metode difusi cakram digunakan dalam pengujian zona hambat daun *O. basilicum*. *Mueller-Hinton Agar* yang telah disterilisasi pada suhu 121°C selama 2 jam pada autoklaf disiapkan. Kultur bakteri diencerkan dengan *Mueller-Hinton Broth* untuk mendapatkan inokulum awal, yaitu 0,5 skala McFarland (10⁸ CFU/ml) atau nilai absorbansnya jika dilihat dengan *spectrophotometer* setara dengan 0,1 pada panjang gelombang 600 nm. Preparasi ekstrak ke dalam berbagai konsentrasi yang akan diujikan, dengan melarutkan 51,2 mg ekstrak pekat dengan 100 µl pelarut DMSO 10%, kemudian dilakukan pengenceran dua tingkat. Konsentrasi ekstrak yang diuji mulai dari konsentrasi 512.000 - 1.000 ppm. Klorheksidin 0,1% dengan sediaan obat kumur Minosep® digunakan sebagai kontrol positif dan pelarut DMSO 10% sebagai kontrol negatif.

Dua puluh µl ekstrak yang telah dilarutkan dengan DMSO 10% dan juga kontrol diteteskan pada cakram uji dalam keadaan aseptik, kemudian cakram uji diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dan setiap cakram uji harus didistribusikan secara merata. Inkubasi dilakukan selama 48 jam dengan suhu 37°C. Diameter zona hambat merupakan zona bening di sekitar cakram uji yang diukur dalam satuan millimeter (mm). Pengujian ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Keseluruhan metode pengujian antibakteri pada penelitian ini merujuk kepada rekomendasi *Clinical & Laboratory Standards Institute* untuk metode difusi cakram.²³

HASIL

Ekstrak etil asetat *Ocimum basilicum*

Ekstrak pekat *O. basilicum* yang diperoleh melalui proses maserasi adalah sebanyak 6,72 gram, sehingga, rendemen ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* yang diperoleh sebesar 6,17%.

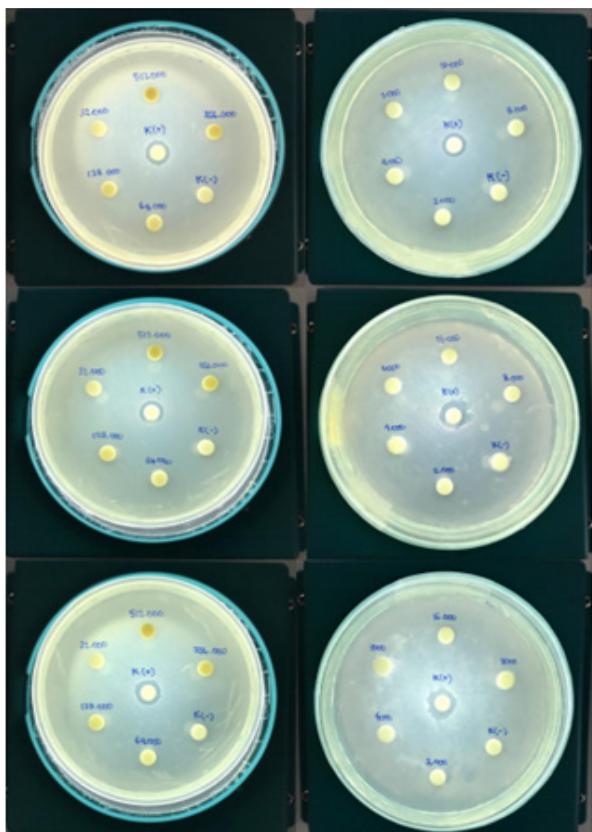


Gambar 1. (a) Ekstrak etil asetat daun *O. basilicum*; (b) ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* setelah dilarutkan menggunakan DMSO 10%. (Sumber: Dokumentasi pribadi)

Pengujian zona hambat dengan metode difusi cakram, dilakukan dengan meletakkan 7 buah cakram uji berdiameter 6 mm yang telah diteteskan ekstrak dan kontrol pada permukaan media *Mueller-Hinton Agar* yang telah diinokulasikan suspensi bakteri. Konsentrasi uji 512.000 ppm ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* memperlihatkan adanya zona abu-abu seluas 1 mm di luar cakram uji, sedangkan konsentrasi uji lainnya tidak memperlihatkan adanya penghambatan.

Tabel 1. Pengujian zona hambat ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* terhadap *E. Faecalis* ATCC 29212

Konsentrasi uji	Pengukuran Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	I	II	III	
512.000 ppm	1	1	1	1
256.000 ppm	-	-	-	-
128.000 ppm	-	-	-	-
64.000 ppm	-	-	-	-
32.000 ppm	-	-	-	-
16.000 ppm	-	-	-	-
8.000 ppm	-	-	-	-
4.000 ppm	-	-	-	-
2.000 ppm	-	-	-	-
1.000 ppm	-	-	-	-
Kontrol (-)	-	-	-	-
Kontrol (+)	3	3	3	3,5
	3	5	4	



Gambar 2. Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Kemangi (*O. basilicum*) terhadap *E. faecalis* ATCC 29212 dengan Tiga Kali Pengulangan (Sumber: Dokumentasi pribadi)

PEMBAHASAN

Penelitian mengenai zona hambat dengan metode difusi cakram dilakukan untuk mengetahui gambaran awal, apakah ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* memiliki potensi antibakteri terhadap *E. faecalis* ATCC 29212. Hasil penelitian ini, memperlihatkan bahwa ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* memiliki diameter zona abu-abu pada konsentrasi uji 512.000 ppm. Merujuk kepada *Clinical and Laboratory Standards Institute*, hasil tersebut perlu dikonfirmasi dengan pengujian lanjutan mengenai konsentrasi hambat minimum (KHM) untuk memastikan potensi antibakterinya. Pengujian lanjutan tersebut dilakukan pada konsentrasi yang memperlihatkan hasil diameter zona penghambatan ataupun konsentrasi yang tidak memperlihatkan penghambatan.²³

Konsentrasi uji di bawah 512.000 ppm dalam penelitian ini, tidak memperlihatkan adanya zona bening yang menggambarkan penghambatan oleh ekstrak. Penelitian oleh Araújo, *et. al* (2014) mengenai efek ekstrak etanol *O. Basilicum* terhadap *E. faecalis* juga memperlihatkan daya

bakteriostatik yang lemah dan dianggap tidak memiliki daya bakterisid.²⁴ Berdasarkan hal tersebut, terdapat kemungkinan bahwa ekstrak etil asetat *O. basilicum* tidak memiliki efek antibakteri terhadap *E. faecalis* ATCC 29212.

Berkaitan dengan nilai rendemen ekstrak yang diperoleh, nilai ini menggambarkan banyaknya zat aktif yang terkandung pada ekstrak.²⁵ Nilai 6,17% dapat menggambarkan sedikitnya zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak daun *O. basilicum* pada penelitian ini, sehingga aktivitas dari zat aktif yang diharapkan tidak terlihat maksimal.

Kemungkinan lainnya yang menyebabkan pengujian pada penelitian ini tidak memperlihatkan adanya zona hambat adalah tingkat kelarutan ekstrak. Ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* yang dipreparasi ke dalam berbagai konsentrasi uji pada penelitian ini, tidak larut sempurna setelah dilarutkan menggunakan pelarut DMSO 10%. Terlihat masih adanya ekstrak pekat yang menempel pada dinding *microtube* setelah ekstrak dan pelarut dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*. Hal ini memungkinkan adanya senyawa aktif yang dikandung oleh ekstrak tidak ikut terlarut, sehingga hasil yang diperoleh tidak maksimal pada saat pengujian antibakteri.

Penyebab lain yang mungkin terjadi adalah adanya perbedaan senyawa aktif yang terkandung di dalam sebuah tanaman dengan genus ataupun spesies yang sama.²⁶ Karakter dan komposisi dari suatu spesies tanaman juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti temperatur, jenis tanah, wilayah geografis, curah hujan pada masa penanaman, serta musim.²⁷ Genus *Ocimum* seringkali diklasifikasikan menjadi 4 kemotipe utama, yaitu kaya metil chavicol, kaya linalool, kaya metil eugenol, dan kaya metil sinamat.²⁶ Linalool merupakan terpenoid dan diketahui berpotensi untuk aktivitas antibakteri.^{15,26} Kemotipe linalool dan methyl chavicol sebagian besar ditemukan pada genus *Ocimum* yang tumbuh di wilayah Eropa, sedangkan pada daerah Asia seringkali ditemukan kemotipe metil eugenol.²⁶ Sampel daun *O. basilicum* pada penelitian ini diperoleh dari petani di daerah Lembang, Jawa Barat, Indonesia. Sampel ditanam ketika sedang berlangsung musim kemarau dan ditanam pada usia tumbuhan cukup tua.

Ditinjau dari metode yang digunakan, yaitu metode difusi cakram, diketahui bahwa metode ini

merupakan metode yang paling sering digunakan karena kemudahan melakukkan pengujian serta dapat dilakukan dengan biaya yang lebih murah, karena hanya membutuhkan jumlah sampel yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan metode difusi agar serta pengujinya dapat dilakukan oleh peneliti pemula.²⁸ Akan tetapi, kelemahan dari metode ini yang sering dikritisi adalah kemampuan ekstrak untuk berdifusi ke agar.²⁸ Ekstrak yang berdifusi ke agar dan menjauhi cakram uji dapat menciptakan suatu gradien warna yang mengikuti warna ekstrak dan juga menciptakan gradien konsentrasi, sehingga dapat membiaskan hasil dengan daya antibakteri yang sebenarnya.²⁸ Selain itu, jika kelarutan ekstrak yang dimiliki terbatas, metode ini mungkin tidak dapat mencerminkan aktivitas antibakteri yang sebenarnya dikandung ekstrak.²⁸ Oleh karena itu, disarankan untuk melakukan pengujian potensi antibakteri lebih lanjut dengan metode *microdilution*, untuk melihat nilai konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum dari ekstrak daun *O. basilicum*.

SIMPULAN

Ekstrak etil asetat daun *O. basilicum* tidak memiliki zona hambat terhadap *E. faecalis* ATCC 29212.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Universitas Padjadjaran atas Hibah Internal Unpad (HIU) – Riset Fundamental Unpad.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tabassum S, Khan FR. Failure of endodontic treatment: The usual suspects. Eur J Dent. 2016;10(1):144-7. DOI:[10.4103/1305-7456.175682](https://doi.org/10.4103/1305-7456.175682)
2. Vasudeva A, Joy D, Prabha S, Singh N, Garg P, Upadhyay D. Disinfection of dentinal tubules with 2% chlorhexidine gel, calcium hydroxide and herbal intracanal medicaments against enterococcus faecalis: An in-Vitro Study. Singapore Dent J. 2017;38:39–44. DOI:[10.1016/j.sdj.2017.06.001](https://doi.org/10.1016/j.sdj.2017.06.001)
3. Pinheiro E, Mayer M. Enterococcus faecalis in Oral Infections. JBR J Interdiscip Med Dent Sci. 2014;3(1):1-5. DOI:[10.4172/2376-032X.1000160](https://doi.org/10.4172/2376-032X.1000160)
4. Binejad T. Root canal irrigants and disinfectants. Winter 2011 Endodontics: Colleagues For Excellence Newsletter. 2011.p. 1-8.
5. Mozayeni MA, Haeri A, Dianat O, Jafari AR. Antimicrobial effects of four intracanal medicaments on enterococcus faecalis: An in vitro study. Iran Endod J. 2014;9(3):195-8.
6. Roças IN, Jose F, Siqueira J. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. J Clin Microbiol. 2012;50(5):1721-4. DOI: [10.1128/JCM.00531-12](https://doi.org/10.1128/JCM.00531-12)
7. Halkai R, Hegde MN, Halkai K. Enterococcus faecalis can survive extreme challenges - overview. Nitte Univ J Heal Sci. 2012;2(3):49–53.
8. Dammaschke T, Jung N, Harks I, Schafer E. The effect of different root canal medicaments on the elimination of enterococcus faecalis ex vivo. Eur J Dent. 2013;7(4):442–8. DOI: [10.4103/1305-7456.120683](https://doi.org/10.4103/1305-7456.120683)
9. Atila-Pektaş B, Yurdakul P, Gülmez D, Gördüysus O. Antimicrobial effects of root canal medicaments against enterococcus faecalis and streptococcus mutans. Int Endod J. 2013 Sep 11;46(5):413–8. DOI:[10.1111/iej.12004](https://doi.org/10.1111/iej.12004)
10. Tanumihardja M. Larutan irigasi saluran akar. J Dentomaxillofacial Sci. 2010;9(2):108-15.
11. Gomes BPFA, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. Chlorhexidine in endodontics. Braz Dent J. 2013;24(2):89–102. DOI:[10.1590/0103-6440201302188](https://doi.org/10.1590/0103-6440201302188)
12. Wright PP, Walsh LJ. Optimizing antimicrobial agents in endodontics. In: antibacterial agents chapter 5. InTech; 2017:87-108. DOI:[10.5772/67711](https://doi.org/10.5772/67711)
13. Eftekhar N, Moghimi A, Boskabady MH, Kaveh M, Shakeri F. *Ocimum basilicum* Affects tracheal responsiveness, lung inflammatory cells and oxidant-antioxidant biomarkers in sensitized rats. Drug Chem Toxicol. 2018;42:1–9. DOI:[10.1080/01480545.2018.1459672](https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1459672)
14. Vlase L, Benedec D, Hanganu D, Damian G, Csillag I, Sevastre B, et al. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *hyssopus officinalis*, *ocimum basilicum* and *teucrium chamaedrys*.

- Molecules. 2014;19:5490-507. DOI: [10.3390/molecules19055490](https://doi.org/10.3390/molecules19055490)
15. Silva VA, Pereira J, Luna H De, Pessôa F, Fernanda A, Freitas R De, et al. Ocimum basilicum: Antibacterial activity and association study with antibiotics against bacteria of clinical importance. Int J Pharmacogn Phytochem Res. 2015;7(6):1066–71. DOI: [10.3109/13880209.2015.1088551](https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1088551)
16. Bilal A, Jahan N, Ahmed A, Bilal SN, Habib S, Hajra S. Phytochemical and pharmacological studies on ocimum basilicum linn - A Review. Int J Curr Res Rev. 2012;04(23):73-83.
17. Ch MA, Naz SB, Sharif A, Akram M, Saeed MA. Biological and pharmacological properties of the sweet basil (Ocimum basilicum). Br J Pharm Res. 2015;7(5):330–9. DOI: [10.9734/BJPR/2015/16505](https://doi.org/10.9734/BJPR/2015/16505)
18. Predoi D, Iconaru SL, Buton N, Badea ML, Marutescu L. Antimicrobial activity of new materials based on lavender and basil essential oils and hydroxyapatite. Nanomater. 2018;8(5):291. DOI: [10.3390/nano8050291](https://doi.org/10.3390/nano8050291)
19. Makade CS, Shenoi PR, Morey E, Paralikar AV. Evaluation of antimicrobial activity and efficacy of herbal oils and extracts in disinfection of gutta percha cones before obturation. Restor Dent Endod. 2017;42(4):264–72. DOI: [10.5395/rde.2017.42.4.264](https://doi.org/10.5395/rde.2017.42.4.264)
20. NN A. A Review on The Extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med Aromat Plants. 2015;4(3):3–8. DOI: [10.4172/2167-0412.1000196](https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196)
21. Oxoid. Safety data sheet agar bacteriological (Agar No. 1) LP0011. Oxoid. 2010. p. 1–3.
22. Sigma-Aldrich. 70192 Mueller Hinton Broth (M-H Broth). 2018. p. 1–2.
23. CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard.11th ed. CLSI Doc M02-A11. 2012;32(1):11-23.
24. Araújo SG, Alves LF, Pinto MEA, Oliveira GT, Siqueira EP, Ribeiro RIMA, et al. Volatile compounds of lamiaceae exhibit a synergistic antibacterial activity with streptomycin. Brazilian J Microbiol. 2014;45(4):1341–7. DOI: [10.1590/S1517-83822014000400026](https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000400026)
25. Senduk TW, Montolalu LADY, Dotulong V. Rendemen ekstrak air rebusan daun tua mangrove sonneratia alba. Perikan dan Kelaut Trop. 2020;11(1):9-15.
26. Avetisyan A, Markosian A, Petrosyan M, Sahakyan N, Babayan A, Aloyan S, et al. Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil ocimum different cultivars. BMC Complement Altern Med. 2017;17:1–8. DOI: [10.1186/s12906-017-1587-5](https://doi.org/10.1186/s12906-017-1587-5)
27. Gebrehiwot H, Bachetti RK, Dakebo A. Chemical composition and antimicrobial activities of leaves of sweet basil (Ocimum basilicum L.). Int J Basic Clin Pharmacol. 2015;4(5):869–75. DOI: [10.18203/2319-2003.ijbcp20150858](https://doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20150858)
28. Panda SK. Screening methods in the study of antimicrobial properties of screening methods in the study of antimicrobial properties of medicinal plants. Int J Biotechnol Res. 2012;2(1):1–35.