

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Artikel Menurut Atika Thereenesia

Atika Thereenesia | Perbandingan Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*

Tanaman kemangi memiliki efek antidiabetik, antibakteri dan antihiperlipidemia dan memiliki efektifitas antioksidan. Tanaman kemangi ini mengandung senyawa flavonoid, tannin, dan minyak atsiri yang bersifat antibakteri. Minyak atsiri menjadi kandungan paling utama dalam kemangi. Kandungan minyak atsiri dalam daun kemangi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Candida albicans*, *Streptococcus alfa* dan *Bacillus subtilis*.^{5,6,7}

Pada penelitian sebelumnya didapatkan hasil minyak atsiri daun kemangi mempunyai aktivitas antibakteri dengan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Ekstrak alkohol dari daun kemangi dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.⁸

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti akan melakukan penelitian untuk menguji khasiat dari ekstrak daun kemangi terhadap diameter zona hambat bakteri Gram negatif (*S. typhi*) dan Gram positif (*S. aureus*).

Metode Penelitian

Bahan penelitian ini menggunakan daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) yang dibeli di

pasar tradisional yang berada di Bandar Lampung. Mikroba uji, di antaranya adalah bakteri Gram negatif (-) yaitu *S. typhi* dan bakteri Gram positif (+) yaitu *S. aureus*. Bakteri ini didapatkan dari UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Bandar Lampung. Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan media agar MHA (*Muller Hinton Agar*). Ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) dalam tingkat konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Antibiotik ceftriakson dan penisilin sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif.

Pada penelitian ini, untuk mendapatkan zat aktif daun kemangi, maka perlu dilakukan proses ekstraksi. Proses ekstraksi yang dilakukan adalah dengan menggunakan metode maserasi. Prinsip ekstraksi dengan metode maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar yang terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan adalah etanol.⁹

Kemudian, sejumlah ekstrak daun kemangi akan diencerkan sehingga mendapat beberapa macam konsentrasi dalam tabung reaksi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah sumuran, yakni dengan membuat lubang pada agar padat dengan diameter 6 mm pada media nutrient agar yang sudah tercampur dengan bakteri uji sebanyak 1 mL setiap cawan, lalu setiap cawan dibuat 4 sumuran, dan kemudian di tiap-tiap sumuran diberi ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) dengan masing-masing konsentrasi sebanyak 50 µl. Kemudian diamati kadar zona hambat dari pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan *S. aureus*. Dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.¹⁰

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini, didapatkan hasil diameter zona hambat pada kedua bakteri uji. Pada bakteri *S. aureus* (tabel 1), secara deskriptif zona hambat yang terbentuk paling tinggi terdapat pada konsentrasi 100% dengan rerata 21,75 mm. Sedangkan pada *S. typhi* (tabel 2), secara deskriptif zona hambatan yang tertinggi pada konsentrasi 80% dengan rerata 6,25 mm. Dan pada analisis

bivariat didapatkan hasil terdapat perbandingan bermakna secara statistik terhadap diameter zona hambat bakteri *S. aureus* dan *S. typhi*.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat *Staphylococcus aureus*.

| Konsentrasi | Diameter Zona Hambat (mm) | | | | | | Rata-rata (rata-rata) | Standar Deviasi |
|-------------|---------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------------------|-----------------------|-----------------|
| | Ekstrak 20% | Ekstrak 40% | Ekstrak 60% | Ekstrak 80% | Ekstrak 100% | Kontrol (tanpa ekstrak) | | |
| 1 | 11 | 10 | 11 | 14 | 14 | 11 | 0 | |
| 2 | 10 | 10 | 11 | 13 | 15 | 11 | 0 | |
| 3 | 8 | 10 | 10 | 10 | 11 | 11 | 0 | |
| 4 | 5 | 7 | 9 | 15 | 13 | 15 | 0 | |
| Rerata | 8,5 | 9 | 10 | 13,75 | 13,75 | 11,75 | 0 | |

Tabel 2. Diameter Zona Hambat *Salmonella typhi*.

| Konsentrasi | Diameter Zona Hambat (mm) | | | | | | Rata-rata (rata-rata) | Standar Deviasi |
|-------------|---------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------------------|-----------------------|-----------------|
| | Ekstrak 20% | Ekstrak 40% | Ekstrak 60% | Ekstrak 80% | Ekstrak 100% | Kontrol (tanpa ekstrak) | | |
| 1 | 6 | 8 | 6 | 11 | 8 | 10 | 0 | |
| 2 | 6 | 10 | 5 | 6 | 7 | 10 | 0 | |
| 3 | 8 | 6 | 6 | 8 | 9 | 10 | 0 | |
| 4 | 6 | 6 | 6 | 6 | 10 | 10 | 0 | |
| Rerata | 6,25 | 8 | 5,75 | 6,25 | 6 | 10,25 | 0 | |

Baik *S. aureus* dan *S. typhi* menunjukkan peningkatan diameter zona hambat yang tidak selalu diikuti dengan peningkatan konsentrasi

Atika Threenesia | Perbandingan Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*

ekstrak daun kemangi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menyebutkan diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan kenaikan konsentrasi ekstrak dan jenis ekstrak yang berbeda dapat memberikan zona hambat yang berbeda-beda. Rerata zona hambat yang terbentuk pada *S. aureus* tergolong tinggi dibandingkan dengan bakteri *S. typhi*. Karena, bila daya hambat yang terbentuk oleh ekstrak lebih dari 20mm yang berarti zona hambat ekstrak daun kemangi tersebut tergolong sangat kuat. Sedangkan zona hambat yang ukurannya 10mm-20mm tergolong kuat, 5-10mm tergolong sedang dan kurang dari 5mm tergolong lemah. Dan ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi lebih dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yaitu *S. aureus* dibandingkan bakteri Gram negatif yaitu *S. typhi*.¹¹

Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan dinding sel bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan Gram negatif memiliki dinding sel bakteri yang sangat kompleks. Dinding sel bakteri Gram positif yakni hanya terdiri dari peptidoglikan dan asam teikhoat, sedangkan bakteri Gram negatif terdiri dari peptidoglikan dan membran luar yang mengandung tiga komponen penting di luar peptidoglikan, yakni lipoprotein, lipopolisakarida, dan membran periplasma. Sehingga bakteri Gram positif lebih mudah dihambat pertumbuhannya daripada Gram negatif oleh antimikroba.¹²

Zona hambat yang terbentuk karena ekstrak daun kemangi

memiliki senyawa metabolit yang bersifat antibakteri. Kandungan daun kemangi sendiri mengandung senyawa minyak atsiri, karbohidrat, fitosterol, alkaloid, fenol, tanin, lignin, pati, saponin, flavonoid, terpenoid, antrakuinon, minyak volatil termasuk metil sinamat, metil heptenon, metil nonilketon, kamfor, dan sitrat.⁸

Menurut Yuhana *et al.*,¹³ daun kemangi mengandung senyawa metabolit yaitu senyawa flavonoid dan fenol. Senyawa flavonoid bersifat lipofilik yang akan merusak membran bakteri. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Senyawa fenolik dapat memutuskan ikatan peptidoglikan ketika

melewati dinding sel.^{13,14}

Senyawa fenol/flavonoid (pinocembrin) bekerja dengan cara denaturasi protein, mengganggu metabolisme sel dan menyebabkan lisis sel bakteri. Senyawa alkaloid dapat menghambat pembentukan peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel pada sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Senyawa saponin dapat menghambat sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan kerusakan komponen-komponen penyusun sel bakteri. Saponin termasuk ke dalam kelompok antibakteri yang bersifat bakterisidal. Hal ini didasari pada cara kerja saponin yang berinteraksi dengan membran sterol sehingga membuat dinding sel bakteri rusak dan terjadi pelepasan komponen penting daridalam sel bakteri yang pada akhirnya sel bakteri mengalami lisis.^{15,16,17,18}

Etanol yang secara umum digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi merupakan senyawa yang bersifat semi polar yang digunakan sebagai pelarut karena bersifat netral, sulitnya kuman untuk tumbuh, tidak beracun, absorpsi baik, dan etanol dapat bercampur dengan segala perbandingan. Etanol juga secara selektif dapat menghasilkan sejumlah senyawa aktif

yang optimal, serta panas yang dibutuhkan untuk pemekatan lebih sedikit.¹⁹

Etanol dapat melarutkan zat aktif dalam kemangi (flavonoid dan fenol) dengan baik namun etanol tidak mampu melarutkan lemak dengan baik. Hal ini menyebabkan terdapat perbedaan hasil rerata diameter yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *S. typhi* setelah diberikan ekstrak daun kemangi dengan pelarut etanol. Pada *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif, tidak memiliki lapisan lipopolisakarida yang tebal, sehingga zat aktif yang terlarut dalam etanol dapat bekerja secara optimal dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Pada *S. typhi* yang merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki lapisan lipopolisakarida yang tebal dan lapisan peptidoglikan yang tipis dibawah lipopolisakarida. Lapisan lipopolisakarida ini yang menghambat pertumbuhan *S. typhi* sehingga ekstrak etanol daun kemangi tidak bekerja secara optimal.^{9,20}

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Rahmawati,²¹ dilakukan uji aktivitas antibakteri

Atika Threenesia | Perbandingan Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*

ekstrak daun kemangi terhadap *S. aureus* dan *Escherichia coli*. Didapatkan hasil pada konsentrasi 80% didapatkan daya hambat paling tinggi pada bakteri *S. aureus* sedangkan pada *Escherichia coli* hampir tidak dapat dibedakan zona hambat yang terbentuk karena sangat sedikit zona hambat yang terbentuk. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan yaitu hasil yang didapatkan untuk diameter zona hambat pada bakteri Gram positif lebih besar dibanding Gram negatif.²¹

Penelitian lainnya oleh Angelina²² yang juga menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi terhadap *S. aureus* dan *Escherichia coli*. Didapatkan hasil zona hambat yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, yaitu zona paling kuat terbentuk pada konsentrasi 100% sebesar 18,9 mm pada *S. aureus* dan 10,26 mm pada *E. coli*. Sehingga dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun kemangi lebih poten terhadap bakteri Gram positif dibanding Gram negatif.²²

Namun, pada penelitian Khalil²³ didapatkan hasil uji ekstrak daun kemangi memiliki daya hambat lebih kuat terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan *S. aureus*. Yaitu sebesar 21 mm dan 16 mm. Hal diduga karena perbedaan prosedur pengeringan yang dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan pengeringan langsung menggunakan cahaya matahari,²³ sedangkan pada penelitian Khalil²³ dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hector²⁴ yang menyatakan bahwa suhu dan lama pengeringan dapat mempengaruhi kadar suatu zat pada proses pengeringan.^{23,24}

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat, antara lain konsentrasi mikroba pada media agar, nilai pH pada media agar. Namun selain itu pengaruh dari ekstrak etanol daun kemangi juga berpengaruh terhadap variasi diameter zona hambat.²⁵

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah penisilin pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan ceftriakson pada bakteri *S. typhi*. Kontrol positif diperlukan sebagai pembanding sama halnya dengan kontrol negatif. Hal ini digunakan untuk membandingkan perlakuan ekstrak dengan antibiotik murni (penisilin dan ceftriakson). Penisilin dan seftriakson merupakan antibiotika golongan betalaktam. Antibiotik golongan beta-laktam mempunyai mekanisme kerja anti

bakteri yang secara umum menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri. Mekanisme dari beta-laktam (1) Perlektan pada protein mengikat penisilin yang spesifik (PBPs) yang berlaku sebagai obat reseptor pada bakteri, (2) Penghambatan sintesis dinding sel dengan menghambat transpeptidasi dari peptidoglikan, dan (3) pengaktifan enzim autolitik di dalam dinding sel, yang menghasilkan kerusakan sehingga akibatnya bakteri mati. Pada penelitian ini rerata zona hambat yang dihasilkan penisilin 42,75 mm dan seftriakson 31,5 mm.

Selain faktor-faktor yang telah dijelaskan sebelumnya, dalam melakukan penelitian ini juga tidak terlepas dari adanya kelemahan, keterbatasan, dan kemungkinan bias lainnya yang tidak bisa dihindarkan walaupun telah diupayakan untuk mengatasinya. Di antaranya adalah kondisi lingkungan saat melakukan penelitian yang kurang mendukung (suhu lingkungan dan tingkat kontaminasi yang cukup tinggi).

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa aktivitas

antibakteri ekstrak etanol daun kemangi lebih efektif terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan *S. typhi*.

Terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun kemangi terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *S. typhi* dengan zona hambat tertinggi pada *S. aureus* pada konsentrasi 100% dengan hasil zona hambat 21,75mm dan *S. typhi* pada konsentrasi 80%. dengan hasil zona hambat 6,25mm

Daftar Pustaka

1. Jawetz, Melnick, Adelberg. Mikrobiologi kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg 25th ed. Jakarta, Indonesia: EGC; 2010.
2. Ibrahim T, Opwale B, Oyoniloye J. Antibacterial activity of herbal extracts against multi drug resistant strains of bacteria from clinical original. Life Sciences Leaflets. 2011; 15:490–8.
3. Direktorat Jenderal POM. Standarisasi ekstrak tumbuhan obat indonesia, salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli indonesia. InfoPOM. 2005; hlm. 1–12.
4. Tri AB. Bebas stress. Yogyakarta: Kanisius; 2009.

Atika Threenesia | Perbandingan Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*

5. Ahmad IM, Kun H, Agus S. Pemanfaatan kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai substitusi aroma pada pembuatan sabun herbal antioksidan. 2010; hlm.13–7..
6. Mahmood K, Yaqoob U, Bajwa R. Antibacterial activity of essential oil of *Ocimum sanctum L.*, Mycopath. 2008; 6:hal.63–5.
7. Sudarsono et al. Tumbuhan obat II (hasil penelitian, sifat-sifat, dan penggunaannya), Jakarta, Indonesia: Pusat Studi Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada; 2002.
8. Dhale D, Birari A, Dhulgande S. Preliminary screening of antibacterial and phytochemical studies of *ocimum americanum* Linn. JEcobiotechnology. 2012; 2:hal.11–3.
9. Mujahid R, Pkd A, Nita S. Maserasi sebagai alternatif ekstraksi pada penetapan kadar kurkuminoid simplisia temulawak (*Curcuma xanthoriza Roxb*): 2008. 18-23.
Diakses pada:
<http://publikasiilmiah.unwahas.ac.id/index.php/ilmuFarmasidanklinik/article/view/374/479>.
10. Ainurrochmah A, Ratnasari E, Lisdiana L. Efektivitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* dengan metode sumuran. JUnesa. 2013; 2(3).
11. Rita W. Isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid pada rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). JKimia. 2010; 4(1): hlm.20-6.
12. Lesage G, Bussey H. Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisia*. JMicrobiol Mol Biol. 2006; 70:hlm. 317-43.
13. Yuhana SA, Kusdarwati R, Meles K, Daya antibakteri ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*). [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga; 2013.
14. Pelczar MJ, Chan ECS, Dasar-dasar mikrobiologi I. Jakarta: Universitas Indonesia Press; 2008.
15. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents. 2005; 26(5): hlm.343–56.
16. Siregar A, Sabdono A, Pringgenies D. Potensi antibakteri ekstrak rumput laut

- terhadap bakteri penyakit kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *J marine research*. 2012; 1: hlm.152-60.
17. Brooks G, Butel J, Morse S, Mikrobiologi kedokteran, Jakarta, Indonesia: Salemba Medika; 2010.
 18. Madigan T, Martinko J, Parker J. Brock Biology microorganism. Ed.12th. San Fransisco: Pearson/ Benjamin Cummings; 2009.
 19. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan; 2002.
 20. Dicky AKN. Perbandingan efek pemberian ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. [Skripsi]. Bandar Lampung: Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung; 2016.
 21. Rahmawati A. Uji aktivitas daya anti bakteri ekstrak daun kemangi (*Ocimum sactum* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Secara InVitro. [Skripsi] Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang; 2010.
 22. Angelina M, Turnip M, Khotimah S. Uji aktivitas ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont*. 2015; 4(1): hlm.184–9.
 23. Khalil A. Antimicrobial activity of ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* leaf from Saudi Arabia. *J Biotechnology*. 2013; hlm.1-4.
 24. Hector F. Optimal spray dryer of orange oil. *Proceeding of International Drying Symposium*. Brazil; 2004.
 25. Greenwood D, Finch R, Davey P. Antibiotics sensitivity test, in antimicrobial and chemotherapy. USA: Oxford University Press; 2003

LAMPIRAN 2. Menurut Ida Ayu Ary Widnyani

**INHIBITION ACTIVITY OF BASIL LEAF EXTRACT ON THE
GROWTH
OF *Eschericia coli*, *Salmonela typhi* AND *Listeria monocytogenes***

Ida Ayu Ary Widnyani¹, Nyoman Semadi Antara², Ni Made Wartini²

¹ Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas
Teknologi Pertanian Unud ² Dosen Jurusan Teknologi Industri
Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud
Email koresponden: semadi.antara@unud.ac.id

ABSTRACT

The research aim was to determine the inhibition activity of basil leaf extract against *Eschericia coli*, *Salmonela typhi*, and *Listeria monocytogenes*, and to find out the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extract. This research used split plot design consisting with 2 factors. First factor as a main plot was various solvents (Et-OH, Et-ast, and hexane) and the second factor as a sub main plot was various extract concentrations (100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, and 500 ppm). Each experiment was repeated 3 times and the data were analyzed by analysis of variiances, followed by Duncan's multiple range test. The result showed that the interaction of main plot and sub plot affected significantly, the growth of *E. coli*, *S. typhi* and *L. monocytogenes*. The extraction process using ethanol 70% produced the best extract of basil leaf. This extract could inhibit the growth of *E. coli*, *S. typhi* and *L. monocytogenes* with the MIC of about 200 ppm, 100 ppm and 200 ppm respectively. The extraction process using hexane produced basil leaf extract which it only could inhibit *S. typhi* with MIC of about 500 ppm. Otherwise, the extraction process using Et-ast produced basil leaf extract which it could inhibit *S. typhi* and *L. monocytogenes* with the MIC of about 200 ppm for both bacteria.

Keywords: Basil leaf extract, *Eschericia coli*, *Salmonela typhi*, *Listeria monocytogenes*

PENDAHULUAN

Antibakteri adalah senyawa yang mampu menghambat bahkan membunuh bakteri

(Jawetz *dkk.*, 1996). Senyawa antibakteri alami bisa didapatkan dari tanaman dan dapat

diaplikasikan ke dalam produk pangan (Paramita, 2013). Senyawa antibakteri alami memiliki

efektivitas yang tinggi dalam melawan mikroba penyebab penyakit yang berasal dari

makanan, meskipun digunakan dengan konsentrasi yang rendah (Nursini, 2005; Block *dkk.*,

1992; Ibrahim *dkk.*, 2009). Menurut Buckle *dkk.*, (1985) beberapa mikroorganisme baik

bakteri, khamir, kapang, dan virus dapat bertindak sebagai pembawa penyakit menular

berbahaya yang dapat ditularkan melalui bahan pangan. Hasil penelitian sebelumnya

melaporkan bahwa bakteri patogen *Eschericia coli*, *Salmonela typhi*, dan *Listeria monocytogenes* dapat mengkontaminasi berbagai produk pangan (Churcill *dkk.*, 2006; Hong

dkk., 2004; Velcrec *dkk.*, 2002). Menurut Monack *dkk.*, (2004) infeksi *S. typhi* biasanya

dimulai dengan mengkonsumsi makanan atau air yang terkontaminasi. *S. typhi* akan

menyebarkan di dalam tubuh melalui aliran darah ke hati, limpa, usus, kelenjar getah bening,

sumsung tulang, dan kantong empedu. *E. coli* merupakan bakteri patogen yang mana dapat menyebabkan berbagai macam penyakit seperti diare berdarah, pembengkakan dan kelainan ginjal, demam, kelainan syaraf bahkan kematian (Feng, 1996). *E. coli* sering dijumpai pada daging segar, daging masak yang terkontaminasi daging mentah atau sayuran mentah (Veclerec *dkk.*, 2002; Pathanibul *dkk.*, 2009). *L. monocytogenes* dapat mengkontaminasi bahan pangan mentah seperti susu, daging segar, sayuran, dan makanan hasil laut (Churchill *dkk.*, 2006; Berrang 2012; Kang 1990). Bakteri patogen tersebut menyebabkan penyakit listeriosis (Amagliani *dkk.*, 2004) umumnya memiliki gejala umum seperti demam, muntah, dan diare (Churcill *dkk.*, 2006). Karena hal tersebut membuat bakteri-bakteri patogen tersebut perlu dihambat pertumbuhannya bahkan perlu dibunuh.

Kemangi (*Ocimum sanctum*) dikenal oleh masyarakat Indonesia karena memiliki rasa dan aroma yang khas. Kemangi sering dimanfaatkan untuk sayur dan juga dikonsumsi segar. Tanaman kemangi dapat dimanfaatkan sebagai obat demam, peluruh asi dan peluruh haid (Pitojo, 1996). Menurut Lee *dkk.*, (2005) daun kemangi memiliki kandungan senyawa flavonoid, linalool, benzene, metil sinamat, sineol, dan minyak atsiri. Kandungan flavonoid, dan minyak atsiri diduga membuat kemangi memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Untuk mengekstrak senyawa-senyawa tersebut dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi.

Proses maserasi digunakan agar senyawa-senyawa yang tidak tahan panas tidak rusak (Sudjadi, 1986). Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% (polar), etil asetat (semipolar), dan n-heksana (nonpolar). Pemilihan pelarut didasarkan atas sifat polaritas agar senyawa yang terkandung dapat terkstrak secara optimal. Pelarut etanol 70% memiliki sifat polar, serta toksisitas etanol 70% lebih rendah bila dibandingkan dengan aseton dan metanol yang sama-sama merupakan pelarut polar (Harborne, 1987). Pelarut etil asetat merupakan pelarut semipolar. Menurut Saputra (2010) etil asetat

bersifat tidak higroskopis, mudah menguap, dan dapat mengekstrak senyawa yang bersifat semi polar yang terkandung didalam daun kemangi. Pada penelitian Diantara (2013) menggunakan pelarut n-heksana dapat digunakan untuk mengekstrak minyak atsiri, mudah menguap dan merupakan pelarut nonpolar.

Pada penelitian Handajani (2008) konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas yang digunakan dan memberikan respon positif terhadap daya hambat *Aspergillus* spp menggunakan konsentrasi 100 ppm hingga 500 ppm. Berdasarkan penelitian tersebut konsentrasi ekstrak kemangi yang digunakan pada penelitian ini adalah 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas

antibakteri ekstrak daun kemangi serta mengukur *minimum inhibitory concentration* (MIC) terhadap *E. coli*, *S. typhi*, dan *L. monocytogenes*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioindustri, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Laboratorium Biokimia dan Nutrisi, Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Laboratorium mikrobiologi Pangan, Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan Januari 2014 – April 2014.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah laminar flow cabinet (Aneka Lab Type H.S. 079S), incubator (memmert), Pipet mikro (Brand). Kertas cakram 8,00 mm (Advantec). Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi (*Ocimum sanctum*) segar yang didapatkan dari pasar Badung, pelarut teknis dan proanalisis (etanol 70%, n-heksana, dan etil asetat), isolat *L. monocytogenes* FNCC-0156 didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Gadjah Mada, isolat *E. coli* ATCC 25923, dan isolat *S. typhi* didapatkan dari kultur koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Lactose broth (LB) (Schrlau), Nutrient agar (NA) (Oxoid), Plate count agar (PCA) (Oxoid), Brain heart infusion (BHI) dan Trypticase soy broth (TSB) yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Udayana.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan (experimental research) yang dirancang dengan menggunakan rancangan split plot RAL. Faktor pertama sebagai petak utama adalah jenis pelarut yang terdiri dari 3 taraf (etanol 70%, etil asetat, dan n-heksan). Faktor

kedua sebagai anak petak adalah konsentrasi ekstrak yang terdiri dari 5 taraf (100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm) (Kismiantini, 2011). Pada percobaan ini menggunakan 3 kali ulangan, jadi terdapat 45 unit percobaan ($3 \times 5 \times 3$) dan unit – unit percobaan diasumsikan homogen. Percobaan dianalisis menggunakan analisis varian Bila ada pengaruh nyata, maka analisis dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui beda antar taraf faktor dan interaksinya.

Pelaksanaan Percobaan

Daun kemangi yang didapatkan dari pasar Badung, daun yang digunakan adalah daun yang tumbuh ditengah-tengah. Daun diambil 10 cm dari akar ke atas dan 5 cm kebawah dari ujung daun, hal ini dilakukan untuk mendapatkan daun yang kandungan senyawanya masih dalam keadaan optimal (tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda). Daun kemangi segar dicuci bersih kemudian dipotong melintang dengan ukuran ± 1 mm dengan pisau stainless steel. Daun kemangi ditimbang masing-masing seberat 50 gram dan ditambahkan pelarut dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:20 didiamkan selama 3 hari (Sudjadi, 1986). Selama proses maserasi dilakukan proses pengadukan selama 5 menit setiap pagi. Proses maserasi dilakukan dalam kondisi wadah tertutup rapat pada suhu ruang 27 -28 °C. Setelah 3 hari ekstrak disaring dengan kertas saring kasar, filtratnya disaring kembali dengan kertas Whatman No. 1. Volume ekstrak yang didapat diukur, kemudian dievaporasi hingga seluruh pelarut menguap. Suhu saat proses evaporasi adalah 40 ° C, kecepatan 100 rpm dan tekanan 110 mbar. Ekstrak kental yang dihasilkan diresuspensi dengan pelarut masing-masing (Pa) sebanyak 5 ml, kemudian dipindahkan ke cawan petri yang telah ditimbang berat kosongnya. Ekstrak yang ada di cawan petri dianginkan hingga seluruh pelarut menguap. Setelah itu dilanjutkan dengan perhitungan rendemen dengan rumus,

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat daun kemangi (g)}} \times 100 \%$$

Rendemen merupakan hasil bagi berat produk yang didapat dengan berat bahan baku dikali 100% (AOAC, 1990).

Penyegaran Kultur dan Persiapan Kultur Kerja

Persiapan pembiakan bakteri diawali dengan penyegaran stok kultur isolat bakteri uji. Isolat diambil sebanyak 50 mikroliter *E. coli* dan *S. typhi* dan 1 ose *L. monocytogenes* dimasukkan ke dalam

tabung reaksi yang telah berisi LB untuk isolat *E. coli*, TSB untuk isolat *S. typhi* dan BHI untuk isolat *L. monocytogenes* sebanyak masing – masing 5 ml. Suspensi di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C di dalam inkubator. Kultur yang sudah tumbuh di dalam media cair tersebut digunakan sebagai kultur kerja.

Jurnal REKAYASA DAN MANAJEMEN AGROINDUSTRI ISSN: 2503-488X, Vol. 2. No. 2. September 2014 (99-110)

Uji Daya Hambat

Ekstrak kemangi yang diperoleh diuji daya hambatnya terhadap bakteri uji dengan menggunakan kertas cakram steril ukuran 8,00 mm. Media yang digunakan adalah nutrient agar yang sudah disterilisasi. Media nutrient agar (NA) untuk bakteri uji *E. coli* dan *S. typhi* dan media plate count agar (PCA) untuk bakteri uji *L. monocytogenes*. Media PCA digunakan karena *L. monocytogenes* memerlukan ekstrak khamir sebagai tambahan nutrient untuk dapat tumbuh (Kang, 1990). Media dituang ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga memadat. Setelah media agar memadat ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 50 µl diratakan menggunakan batang gelas bengkok dan dидiamkan hingga mengering selama 15 menit. Kertas cakram steril dengan diameter 8,00 mm ditambahkan ekstrak kemangi sebanyak 50 µl dan tanpa ekstrak sebagai kontrol sebanyak 50 µl, lalu dikeringkan di atas plat kaca agar pelarut menguap seluruhnya. Setelah kering kertas cakram diletakkan di cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam 37° C dengan posisi cawan terbalik. Setelah 24 jam diukur diameter zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Setiap zona bening diukur diameternya sebanyak empat kali di tempat berbeda dan hasilnya di rata-ratakan kemudian dikurangi dengan diameter kertas cakram (Amanah 2011) Konsentrasi ekstrak diturunkan sampai tidak memberikan penghambatan untuk menentukan *minimum inhibitory concentration* (MIC) atau kadar hambat minimum.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Kemangi

Ekstraksi daun kemangi menggunakan metode maserasi

dengan cara merendam bahan di dalam pelarut selama 3 hari pada suhu 37°C (Sudjadi, 1986). Hasil ekstraksi bahan sebanyak 50 g menggunakan pelarut 1 liter didapatkan hasil ekstrak sebanyak 1,669 g dengan rendemen sebesar 0,034 % untuk penggunaan pelarut etanol 70%. Penggunaan etil asetat dengan berat ekstrak 1,0668 g dengan rendemen sebesar 0,021%. 1,535 g ekstrak daun kemangi yang diekstrak dengan pelarut n-heksan menghasilkan rendemen sebesar 0,031%.

Tingkat kepolaran pelarut menentukan jenis dan jumlah senyawa yang dapat diekstrak dari bahan. Pelarut akan mengekstrak senyawa-senyawa yang mempunyai kepolaran yang sama atau mirip dengan kepolaran pelarut yang digunakan (Saputra, 2010). Senyawa pada daun kemangi yang bersifat polar akan terekstrak pada pelarut yang memiliki sifat polar (etanol 70%), senyawa yang bersifat semi polar akan larut pada pelarut semi polar (etil asetat), dan senyawa yang non polar akan terekstrak pada pelarut non polar (n-heksana).

Daya Hambat Ekstrak Daun kemangi

Pada penelitian ini didapatkan hasil berupa zona bening yang merupakan indikator positif adanya daya hambat (Susiloningsih, 2003). Daya hambat yang didapatkan dari hasil penelitian kemudian dibandingkan dengan ketentuan potensi antimikroba.

Tabel 1. Ketentuan potensi antimikroba.

| Daerah Hambatan | Ketentuan |
|-----------------|-------------|
| ≥ 20 mm | Sangat kuat |
| 10-20 mm | Kuat |
| 5-10 mm | Sedang |
| ≤ 5 mm | Lemah |

Sumber : (Ardiansyah, 2005)

Daya Hambat Terhadap *E. coli*

Perlakuan yang memperlihatkan daya hambat tertinggi terhadap bakteri uji *E.coli* adalah perlakuan dengan pelarut etanol 70% pada konsentrasi 500 ppm (Tabel 2) dengan besar diameter rata-rata 4,75 mm. Daya hambat terendah terhadap bakteri uji *E. coli* adalah perlakuan dengan pelarut etanol 70% pada konsentrasi 200 ppm dengan diameter sebesar 1,65

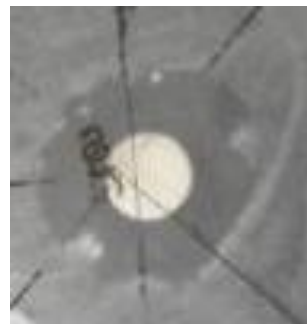
mm. Bila dibandingkan dengan tabel potensi antimikroba diameter daya hambat ekstrak kemangi dengan pelarut etanol 70% dikategorikan memiliki daya hambat yang lemah (Ardiansyah 2005), karena memiliki diameter kurang dari 5 mm (Gambar 1). Pada penelitian yang dilakukan oleh Paramita (2013) *E. coli* dapat dihambat dengan menggunakan ekstrak minyak sereh dapur dengan besar diameter daerah penghambatan hingga 6,03 mm yang dikategorikan memiliki daya hambat sedang (5 – 10 mm) pada konsentrasi terkecil (1%).

Tabel 2. Nilai rata – rata diameter penghambatan ekstrak daun kemangi terhadap *E. coli*.

| Konsentrasi Ekstrak (ppm) | Jenis Larutan Pengekstrak | | |
|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| | Etanol 70% (mm) | Etil Asetat (mm) | n-heksana (mm) |
| 100 | - | - | - |
| 200 | 1,65 d | - | - |
| 300 | 3,46 c | - | - |
| 400 | 4,26 b | - | - |
| 500 | 4,75 a | - | - |

Keterangan : huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) (-) tidak menunjukkan respon daya hambat terhadap bakteri uji

Pada penggunaan ekstrak daun kemangi menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat tidak menunjukkan adanya respon penghambatan terhadap pertumbuhan *E. coli*. Tidak adanya respon penghambatan terhadap bakteri uji diduga karena senyawa-senyawa yang terekstrak pada pemakaian pelarut tersebut tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* (Andriyanto, 2001).



Gambar 1. Daya hambat ekstrak kemangi dengan pelarut etanol 70% 500 ppm terhadap *E. coli*.

Menurut Harborne (1987) penggunaan pelarut etanol 70% dapat melarutkan senyawa flavonoid lebih banyak. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antibakteri karena dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel (Ajizah, 2004).

Daya Hambat Terhadap *S. typhi*

Pada penelitian daya hambat ekstrak daun kemangi terhadap bakteri uji *S. typhi* didapatkan hasil daerah penghambatan tertinggi sebesar 1,88 mm pada penggunaan pelarut etanol 70 % 500 ppm. Daya hambat terendah sebesar 0,40 mm pada penggunaan pelarut etil asetat 200 ppm (Tabel 3). Bila dibandingkan dengan potensi antimikroba maka daya hambat ekstrak daun kemangi dengan konsentrasi sampai 500 ppm dikategorikan memiliki daya hambat yang lemah karena memiliki diameter kurang dari 5 mm (Gambar 2). Pada penelitian Dwyana dan Johannes (2010) *S. typhi* dapat dihambat pertumbuhannya menggunakan ekstrak kasar alga merah dengan lama inkubasi 24 jam sebesar 3,75 mm. Aktifitas biologis senyawa flavonoid pada ekstrak daun kemangi yang diekstrak dengan etanol

70% dan etil asetat dapat merusak dinding sel dari bakteri *S. typhi* yang terdiri dari asam amino dan lipid. Asam amino dan lipid tersebut akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut akan masuk ke dalam inti sel bakteri dan merusak struktur lipid bakteri dan menyebabkan bakteri mengalami kematian (Pasaribu *dkk.*, 2008).

Tabel 3. Nilai rata – rata diameter penghambatan ekstrak daun kemangi terhadap *S. typhi*.

| Konsentrasi Ekstrak (ppm) | Jenis Larutan Pengekstrak | | |
|---------------------------|---------------------------|------------------|----------------|
| | Etanol 70% (mm) | Etil Asetat (mm) | n-heksana (mm) |
| 100 | 0,74 f | - | - |
| 200 | 1,08 d | 0,40 g | - |
| 300 | 1,56 b | 0,92 e | - |
| 400 | 1,69 b | 1,23 c | - |
| 500 | 1,88 a | 1,26 c | 0,69 f |

Keterangan : huruf yang sama dibelakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) (-) tidak menunjukkan adanya respon daya hambat terhadap bakteri uji



Gambar 2. Daya hambat ekstrak kemangi terhadap *S. typhi*

Daya Hambat Terhadap *L. monocytogenes*

Pada bakteri uji *L. monocytogenes* didapatkan diameter daya hambat tertinggi sebesar 5,17 mm, pada penggunaan pelarut etanol 70% konsentrai 500 ppm (Gambar 3). Diameter daya hambat terendah sebesar 1,06 mm pada penggunaan pelarut etil asetat konsentrasi 400 ppm. Pada penggunaan pelarut n-heksana tidak menunjukkan adanya respon penghambatan (Tabel 4).



Gambar 3. Daya hambat ekstrak daun kemangi terhadap *L. monocytogenes*.

Jika dibandingkan dengan tabel potensi antimikroba ekstrak kemangi yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 70% pada

konsentrasi 500 ppm memiliki daya hambat kategori sedang, karena memiliki diameter sebesar 5,17 mm. *L. monocytogenes* merupakan bakteri gram positif, yang hanya memiliki membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal

berupa peptidoglikan, 90% dari dinding sel tersebut tersusun atas peptidoglikan dan sisanya berupa asam teikhonat maka selnya akan mudah terdenaturasi oleh senyawa flavonoid (Jawetz *dkk.*, 1986).

Tabel 4. Nilai rata – rata diameter penghambatan ekstrak daun kemangi terhadap *L. monocytogenes*.

| Konsentrasi Ekstrak (ppm) | Jenis larutan Pengekstrak | | |
|---------------------------|---------------------------|------------------|----------------|
| | Etanol 70% (mm) | Etil Asetat (mm) | n-heksana (mm) |
| 100 | - | - | - |
| 200 | 2,27 d | 1,04 e | - |
| 300 | 3,29 c | 1,06 g | - |
| 400 | 4,41 b | 1,09 g | - |
| 500 | 5,17 a | 1,11 f | - |

Keterangan : huruf yang sama dibelakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) (-) tidak menunjukkan adanya respon daya hambat terhadap bakteri uji

Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Minimum inhibitory concentration (MIC) ekstrak daun kemangi terhadap bakteri uji *E. coli* pada perlakuan pelarut etanol pada konsentrasi 200 ppm, pada bakteri uji *S. typhi* pada perlakuan pelarut etanol dengan konsentrasi 100 ppm, pada perlakuan pelarut n-heksana dengan konsentrasi 500 ppm dan pada perlakuan pelarut etil asetat dengan konsentrasi 200 ppm. Pada bakteri uji *L. monocytogenes* konsentrasi minimum didapatkan pada perlakuan pelarut etanol dengan konsentrasi 200 ppm dan perlakuan pelarut etil asetat dengan konsentrasi 200 ppm. Zona bening yang terbentuk setelah proses inkubasi selama 24 jam tidak mengalami perubahan selama proses pengukuran diameter zona bening, hal ini diduga karena ekstrak kemangi sudah meresap kedalam kertas cakram. Nilai MIC ekstrak daun kemangi terhadap bakteri uji *E. coli*, *S. typhi* dan *L. monocytogenes* dapat dilihat pada Tabel

5. Hasil penelitian ini sejalan dengan apa yang diungkapkan oleh Eddy (2009) yang menyatakan bahwa ekstrak dari tanaman dapat

menekan pertumbuhan mikroorganismenya, semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak maka kandungan senyawa yang bersifat antimikroba semakin banyak sehingga daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri patogen tersebut akan menjadi lebih besar.

Tabel 5. Minimum inhibitory concentration (MIC) ekstrak daun kemangi (ppm) terhadap *E. coli*, *S. typhi*, dan *L. monocytogenes*

| Pelarut | Bakteri Uji | | |
|-------------|----------------|-----------------|-------------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>S. typhi</i> | <i>L. monocytogenes</i> |
| Etanol 70% | 200 | 100 | 200 |
| n-heksan | - | 500 | - |
| Etil Asetat | - | 200 | 200 |

Keterangan : (-) tidak menunjukkan adanya respon daya hambat terhadap bakteri uji

Menurut Lee *dkk.*, (2005) tanaman kemangi mengandung senyawa flavonoid, minyak atsiri, linalool, benzene, metil sinamat, dan sineol. Daya hambat ekstrak daun kemangi terhadap bakteri *E. coli*, *S. typhi*, dan *L. monocytogenes* diduga karena adanya senyawa flavonoid yang terekstrak pada pelarut etanol 70%. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel.

Perbedaan karakteristik bakteri uji juga diduga mempengaruhi sensitivitas terhadap daya antibakteri ekstrak kemangi. *E. coli* dan *S. typhi* merupakan bakteri gram negatif (Buckle 1985). Bakteri gram negatif memiliki sistem membran ganda, yaitu membran plasma diselimuti oleh membran luar permeable. Bakteri ini memiliki dinding sel tebal berupa peptidoglikan yang terletak diantara membran dalam dan luarnya (Brooks, 2001). *L. monocytogenes* merupakan bakteri gram positif (Brooks, 2001) yang memiliki membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoglikan. Dinding sel bakteri tersebut tersusun atas 90% peptidoglikan sisanya berupa asam teikhoat.

Perlakuan dan konsentrasi terbaik sebagai antibakteri untuk menghambat *E.coli*, *S. typhi*, dan *L. monocytogenes* berturut-turut adalah perlakuan pelarut etanol dengan konsentrasi 500 ppm dengan nilai rata-rata penghambatan 4,75 mm, pelarut etanol dengan konsentrasi 500 ppm 1,88 mm, pelarut etanol dengan konsentrasi 500 ppm 5,17 mm.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Daun kemangi yang diekstrak dengan berbagai pelarut menghasilkan ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S typhi*, dan *L. monocytogenes*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak dari daun kemangi maka semakin besar daya hambat terhadap bakteri uji. *S. typhi* lebih sensitif dibandingkan dengan *E. coli* dan *L. monocytogenes*. *Minimum inhibitory concentration* (MIC) ekstrak daun kemangi terhadap daya hambat *E. coli* adalah

200 ppm dengan pelarut etanol. MIC pada *S. typhi* 50 ppm dengan pelarut etanol, 500 ppm

dengan pelarut n-heksan dan 200 ppm dengan pelarut etil asetat. MIC pada *L. monocytogenes*

adalah 200 ppm dengan pelarut etanol dan 200 ppm dengan pelarut etil asetat. Perlakuan

terbaik untuk penghambatan bakteri uji *E.coli*, *S. typhi* dan *L. monocytogenes* adalah

perlakuan ekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 500 ppm dengan daerah

halo berturut-turut (4,75 mm, 1,88 mm, dan 5,17mm).

Saran

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disarankan untuk melakukan penelitian

dengan menggunakan jenis pelarut yang berbeda dan meningkatkan konsentrasi yang

digunakan. Karena dengan menggunakan pelarut yang berbeda, maka jenis senyawa yang

terekstrak juga berbeda, dengan meningkatkan konsentrasi maka kandungan senyawa yang

bersifat antimikroba akan lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *S. typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium guajava* L.

Bioscientiae. 1 (1) : 31-8.

Amagliani, G., Brandi, E., Omiccioli, A., Casiere, I.J., Bruce and Magnani. 2004. Direct detection of *Listeria monocytogenes* from milk by magnetic based DNA isolation and PCR. Food Microbiology. 21 : 597-603

Amanah, N. 2011. Identifikasi dan Karakterisasi Substrat Antimikroba dari bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik yang Diisolasi dari Dadih dan Yoghurt. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor.

Andriyanto, F. 2001. Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Buah Sotul (*Sandoricum koetjapel*) (*Burm. F*) Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Makanan. Skripsi Tidak Dipublikasikan. Fakultas teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (15th Ed.). K. Helrich (Ed.). Virginia.

- Ardiansyah. 2005. Daun Beluntas Sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan. Kliping artikel Ilmiah Indonesia. <http://www.kamusilmiah.com/pangan/daun-beluntas-sebagai-bahan-antibakteri-dan-antioksidan/>. Diakses pada 23 April 2014
- Berrang, M.E., and J.F. Frank. 2012. Generation of air borne *Listeria innocua* from model floor drains. *J. Food Prot.* (75) :1328–1331.
- Block, E., Naganathan, S., Putman, D., and Zhao, S. H. 1992. Allium Chemistry Hplc Analysis of Thiosulfinates from Onion, Garlic, Wild Garlic (Ramsoms), Leek, Scallion, Shallot, Elephant (Great-Headed) Garlic, Chive and Chinese Chive—Uniquely High Allyl to Methyl Ratios in Some Garlic Samples, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40 (12) 2418-2430.

- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen, A.M., Jawetz, Melnick, and Adelberg's. 2001. Mikrobiologi Kedokteran, Alih bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L., Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Buckle, K., R.A. Edwards, G.H. Fleet and M. Wotton. 1985. Ilmu Pangan. Penerjemah Hadi Purnomo dan Adiono. UI. Jakarta
- Churchill, R.L.T., H. Lee and J.C. Hall. 2006. Detection of *Listeria monocytogenes* and the toxin listeriolysin O in food. J. Microbiol. Methods 64: 141 – 170.
- Dwayana, Z., dan Johannes, E., 2010. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma cottoni* Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Alam. Universitas Hasanudin. Makassar
- Eddy, S. 2009. Daya Hambat Zat Anti Mikroba Ekstrak Daun Sambiloto (*Androgramaphis paniculata* (Burm.f) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Secara In-vitro. 6 (1): 9-15
- Feng, P. 1995. *Escherichia coli* Serotype O157-H7—Novel Vehicles of Infection and Emergence of Phenotypic Variants, *Emerging Infectious Diseases*. 1 (2) 47-52.
- Handajani, S. dan Purwoko, T. 2008. Aktivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Aspergillus spp.* Penghasil Aflatoksin dan Fusarium moniliforme. Biodiversitas. 9 (3) :161-164.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Penerbit ITB. Bandung.
- Hong, B., L. Jiang, Y. Hu, D. Fang and H. Guo. 2004. Application of Oligonucleotide array technology for the rapid detection of pathogenic bacteria of foodborne infections. J. Microbiol. Methods. 58: 403 – 411.
- Ibrahim, T. T. S. A., Yang and Fraser, A. 2009. —Antibacterial Activity of a Crude Chive Extract against *Salmonella* in Culture Medium, Beef Broth, and Chicken Broth, *Food Protection Trends*. (29) 155-160
- Jawetz G., Melnick J., and Adelberg E. 1996. Mikrobiologi Kedokteran. Diterjemahkan oleh Edi Nugroho & Maulang RF. Edisi 20. EGC. Jakarta. 639
- Kang, Y.J., and J.F. Frank. 1990. Characteristics of biological aerosols in dairy processing plants. J. Dairy Sci. (73):621–626.
- Kismiantini. 2011. Hand Out Rancangan Percobaan. Jurusan Pendidikan Matematika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Lee, S., Umano, K., Shibamoto, T., and Lee, K. 2005. Identification

of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties, *Food Chemistry*. 91(1) : 131–137.

- Monack, D. M., Mueller A., and Falkow S. 2004. Persistent bacterial infections: the interface of the pathogen and the host immune system. *Nat Rev Microbiol* 2:747–765
- Nursini, N.W. 2005. Pengaruh Ekstrak Jangu (*Accorus calamus* L.) Terhadap Pertumbuhan *E. coli* dan *Vibrio cholerae*. Skripsi Tidak Dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian. UNUD. Jimbaran.
- Paramita, D.A.K. 2013. Daya Hambat Minyak Sereh Dapur (*Lemongrass oil*) Terhadap Pertumbuhan *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio cholerae*. Skripsi Tidak Dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian. UNUD.

- Pasaribu, S.P., Eva, M., dan Bobby, S.N. 2008. Uji Fitokimia, Toksisitas dan Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Jarak Cina (*Jatropha Multifida L.*) Jurnal Kimia Mulawarman 5 (2) ISSN 1693-5616.
- Pathanibul, P., Taylor, T.M., Davidson, P.M., and Harte, F. 2009. —Inactivation of *Escherichia Coli* and *Listeria Innocua* in Apple and Carrot Juices Using High Pressure Homogenization and Nisin, International Journal of Food Microbiology, 129(3) 316-320.
- Pitojo, S. 1996. Kemangi dan Selasih. Ungaran: Trubus Agramiwidya.
- Saputra, A. 2010. Pengaruh Jenis Pelarut Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Karakteristik Ekstrak Flavor Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*). Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian. UNUD.
- Sudjadi. 1986. Metode Pemisahan. UGM Press. Yogyakarta.
- Susiloningsih, T. 2003. Pengaruh Madu dari Berbagai Jenis Lebah Terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, dan *Salmonella thypi*. Skripsi Tidak Dipublikasikan PSTP. UNUD.
- Veclerc, V., B. Dufour, B. Lombard, F. Gauchard, B. Garin-Bastuji, G. Salvat, A. Brisabois, M. Poumeyrol, M-L. De Buyser, N. Gnanou-Besse and C. Lahellec. 2002. Pathogens in meat and milk products: surveillance and impact on human health in France. Livestock Production Science 76: 195–202.

LAMPIRAN 3. Menurut N Prasannabalaji, Dkk

LAMPIRAN 3

Asian Pacific Journal of Tropical Disease (2012) S291-S295 S291

Contents lists available at ScienceDirect

Asian Pacific Journal of Tropical Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/apjtd

Document heading

Antibacterial activities of some Indian traditional plant extracts

N Prasannabalaji¹, G Muralitharan¹, RN Sivanandan², S Kumaran³ and SR Pugazhvendan⁴

¹Department of Microbiology, School of Life Sciences, Bharathidasan University, Tiruchirappalli 620 024, Tamilnadu, India.
²Department of Medical Biotechnology, Sri Ramachandra University, Porur, Chennai 600 116, Tamilnadu, India.
³CAS Marine Biology, Annamalai University, Parangipattai 608 502, Tamilnadu, India.
⁴Department of Zoology, DDE, Annamalai University, Annamalai Nagar 608 002, Tamilnadu, India

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:
 Received 5 June 2012
 received in revised form 5 July 2012
 Accepted 7 October 2012
 Available online 28 October 2012

Keywords:
 Proteolytic
 Fibrinogenolytic
 Hemolytic assay
 Phospholipase
 Hyaluronidase
 MTT assay

Objective: To evaluate the in vitro antibacterial activity of various solvent extracts of South Indian traditional medicinal plants *Ocimum sanctum*, *Ocimum gratissimum*, *Aegle marmelos*, and *Achatoda vasica* leaves against clinical pathogens of human origin. **Methods:** The antimicrobial activity of different solvents crude extract of four medicinal plants used in traditional Indian medicine was tested by disc diffusion method against five bacterial pathogens: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* and *Klebsiella pneumoniae*. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) was determined for evaluating the potential plant extract. **Results:** The antibacterial results showed methanol extracts (0.4 g/ml) of *Ocimum gratissimum* and *Ocimum sanctum* showed maximum zone of inhibition (3) mm and 25.3 mm, respectively against *Salmonella typhi*. MIC was tested at various concentrations from 0.625 mg/ml to 0.025 mg/ml for all the plant extracts. At the lowest concentration (0.025 mg/ml) tested, methanol extracts of *Ocimum gratissimum* showed higher MIC against *Salmonella typhi* and *Salmonella paratyphi* where as the methanolic extracts of *Ocimum gratissimum* showed potent activity against *Staphylococcus aureus* at 0.075 mg/ml. Methanol extract (0.4 g/ml) of *Aegle marmelos* showed significant inhibitory activity of 22.5 mm and MIC value of 0.156 mg/ml against *E. coli* strain. The *Klebsiella* spp was the most resistant strain of all and various concentrations *Achatoda vasica* extract showed less activity against the tested pathogens. **Conclusions:** The present screening result demonstrated that the Indian traditional medicinal plants *Ocimum sanctum*, *Ocimum gratissimum*, *Aegle marmelos* methanol leaf extract has potent antibacterial activity and the studied plants may be new source for novel antibacterial compound discovery for treating drug resistant human pathogens.

1. Introduction

Recently, the World Health Organization reports that at least 75 - 99% of the world populations of developing countries were chiefly rely on traditional medicines and major part of traditional therapies involves the use of plant extract products or their active constituents [1]. Traditional medicine usage is a common practice in developed and developing countries at the primary healthcare level [2]. Due to increased and indiscriminate use of antibiotics for treatment of humans and animals there develops the antibiotic resistance and multidrug resistance microorganisms like *Salmonella* spp.

*Corresponding author: N. Prasannabalaji, Department of Microbiology, School of Life Sciences, Bharathidasan University, Tiruchirappalli 620 024, Tamilnadu, India.
 E-mail: apjtd@elsevier.com; kumarans@stgmsi.com

which has increased a great deal in developing countries [3]. It is estimated that nontyphoidal *Salmonella* cause between two hundred million and 1.3 billion cases of intestinal disease including 3 million of death each year worldwide [4]. The demand for more and more drugs from plant sources is continuously increasing which necessitates screening medicinal plants with promising biological activity [5]. Medicinal plants are gifts of nature to cure number of diseases among human beings and a large number of plants in different location around the world have been extracted, semi-purified to investigate individually their antimicrobial activity [6].

The plant like *Ocimum sanctum*, *Ocimum gratissimum* has a versatile role to play in traditional medicines. These are popularly known as "Thulasi" also *tulasi*, *tulasi*, or Holy basil is an aromatic plant in the family *Lamiaceae*. *Ocimum sanctum* is cultivated for its medicinal purpose as herbal

tea in Ayurveda and religious purpose as performing worship with leaves across South Asia. It was well documented already on the bioactive compounds of *Ocimum sanctum* for medicinal aspects i.e. antimicrobial, adaptogenic, antidiabetic, hepatoprotective, anti-inflammatory, anti-carcinogenic, radioprotective, immunomodulatory, chemopreventive, cardioprotective, and safe guarding against possible deficiencies [17]. *Ocimum sanctum* extracts are effective against *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* and used as better alternative in food preservation [18]. *Ocimum gratissimum* were cultivated in Indian houses, temples for pujas and traditional medicinal aspects. These plants were widely distributed in tropical and warm temperature regions in India and commonly known as "alfavaca". It is naturally used in the treatment of different diseases including upper respiratory tract infections, diarrhea, headache, conjunctivitis, skin diseases, pneumonia tooth and gum disorders [19].

The plant *Aegle marmelos* belong to family Rutaceae is commonly known as "Bael" in Hindi, as "vilvam" in Tamil and leaves also auspiciously used in Indian temples for pujas. Also the leaves, stem, bark, fruits possess medicinal value and widely used in treating skin and eye diseases [10]. *A. marmelos* leaves extract exhibit broad spectrum antibacterial and antifungal activities [11]. *Aegle marmelos* solvent extract were reported to show potential antidiabetic in regeneration of β -cells, antihyperlipidaemic, antioxidant, radio protective, hepatoprotective, antiarthritis activity and anti-inflammatory properties [12-15]. Because of its potent antibacterial activity, *Aegle marmelos* plants were used in folk-lore medicine for the production of bioactive compounds and for preliminary health care [16].

Adhatoda vasica (acanthaceae) known as chue mue, is a stout straggling prostrate shrubby plant with the compound leaves which gets sensitive on touching. The medicinal properties of *Adhatoda vasica* exert bacteriostatic and bactericidal effects on both gram positive and gram negative bacteria on animal models. These effects have been attributed to the peptides, alkaloids, and flavonols, which are major components in these plants [20-21].

The usage of plant parts as traditional medicine is the most common practice in India, particularly as folk-lore medicines. Due to continuous usage of antibiotics against clinical pathogens, development of drug resistance is a major problem now-a-days. With this in view, the wild plant extracts of *Ocimum sanctum*, *Ocimum gratissimum*, *Aegle marmelos*, and *Adhatoda vasica* was tested for searching a potential source for new type of antibiotics for treating bacterial diseases. The folk-lore medicinal facts make the present work to investigate on the antibacterial activity of wild plant extracted compounds against clinical pathogenic isolates.

2. Materials and methods

2.1. Collection and identification of plant materials

The medicinal plants, *Ocimum sanctum*, *Ocimum gratissimum*, *Aegle marmelos*, and *Adhatoda vasica* were

collected from Paallar river beds of Kanchipuram, Tamilnadu, India. The taxonomic position of the plants were identified and authenticated. Leaves from the plants were collected in a large quantity and washed with clear distilled water and dried in an oven at 60 °C for 5 mins for extraction purposes

2.2. Extraction of plant materials

250 gm of each plant leaves were taken for extraction procedure and grinded in a mortar and pestle separately under aseptic condition [22]. The solvents extraction was done by modified method of dissolving 5 g of dried plant powder in Soxhlet apparatus with ethanol, methanol and acetone (200ml) separately for 24 hrs at 65 °C. The extracts were concentrated to dryness in rotary pressure evaporator and stored at 4 °C for further antimicrobial study [23].

2.3. Preparation of test organisms

Staphylococcus aureus, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* were isolated from the clinical samples obtained from patients attending Government Hospital, Kanchipuram, Tamilnadu, India. The organisms were isolated in nutrient agar medium and selectively cultured at 37 °C for 24 hrs. The bacterial strains were identified by biochemical and standard antibiogram tests as per the directions from Bergy's manual for determinative bacteriology.

2.4. Antimicrobial assay

2.4.1. Antibacterial sensitivity testing using disc diffusion method

Circular disc of 6 mm diameter were made from the Whatman no 1 filter paper. Discs were impregnated with equal volume (50 μ l) of each plant extracts at four different concentrations (0.05 g/ml, 0.1g/ml, 0.2g/ml & 0.4g/ml). The discs were aseptically placed over plates of Muller Hinton agar (MHA, Difco) seeded with each of test pathogens, and the inoculum was adjusted to 0.5 McFarland turbidometry [22]. The plates were incubated in an upright position at 37 °C for 24 hours and the zone of inhibition was measured (in mm diameter). Inhibition zones with diameter less than 12 mm were considered as having low antibacterial activity. Diameters between 12 and 16 mm were considered moderately active, and these with >16mm were considered highly active [24]. The clinical strains were also tested for their sensitivity against the standard antibiotics, ciprofloxacin (5 mcg), nalidixic acid (10mcg), novobiocin (30 mcg) by the disk diffusion method.

2.4.2. Antibacterial activity by microdilution MIC assay methods

The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by comparing the various concentrations of plant extracts which have different inhibitory effect and selecting the lowest concentration of extract showing inhibition [25]. The MIC had done by 96 well U bottom plates. The MIC plates were filled with Mueller Hinton Agar (MHA) and various concentrations

S294

N. Prasad et al. / J. Adv. Med. Sci. (2012) 5(251-259)

was studied from the range of 0.625 to 0.039 mg/ml. The plant methanol extract showing more than 7 mm zone of inhibition was taken as observable MIC value (Table 2). The MIC value of *Ocimum gratissimum* methanol extract for the bacterial strains *S. typhi* and *S. paratyphi* were 0.039 mg/ml (MIC=MBC). The *E. coli* appeared to be sensitive with a zone of inhibition of 22.5 mm and the MIC value of 0.156 mg/ml for *Aegle marmelos* respectively. The gram positive *Staphylococcus aureus* were

the moderate sensitive of all against all the extracts tested, while the *Ocimum gratissimum* methanol crude extract shows maximum zone of inhibition of 24 mm and MIC of 0.078 mg/ml respectively. From MIC results of present study the methanol extracts of *Ocimum gratissimum* and *Aegle marmelos* showed prominent inhibitory action against all the pathogens tested, which indicates its possible application for antibacterial activity.

Table 2

The minimum inhibitory concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC)

| Plants/Bacterium | <i>Ocimum sanctum</i> | <i>Ocimum gratissimum</i> | A. Marmelos | A. vasica | -control Cf |
|------------------|-----------------------|---------------------------|-------------|-------------|-------------|
| S.a | 0.156 mg/ml | 0.078 mg/ml | 0.312 mg/ml | 0.021 mg/ml | 0.001 mg/ml |
| E.c | 0.021 mg/ml | 0.021 mg/ml | 0.156 mg/ml | 0.021 mg/ml | 0.002 mg/ml |
| S.t | 0.156 mg/ml | 0.039 mg/ml | 0.021 mg/ml | 0.021 mg/ml | 0.004 mg/ml |
| S.pt | 0.156 mg/ml | 0.039 mg/ml | 0.021 mg/ml | - | 0.001 mg/ml |
| K.n | - | - | - | - | 0.002 mg/ml |

S.a : *Staphylococcus aureus*, E.c : *Escherichia coli*, S.t : *Salmonella typhi*, S.pt : *Salmonella paratyphi*, K.n : *Klebsiella pneumoniae*, - : Not Determined.

-ve control cf : ciprofloxacin.

4. Discussion

The Medicinal plants have been main source for drugs over many centuries in many countries, in both developed and developing world. Traditional medicines products are not officially recognized in many countries, and the European union presently developing regulatory laws for quality traditional medicines [10]. It is estimated that at least 25% of all modern medicines are derived either directly or indirectly from medicinal plants. Traditional medicines play important role in world health treating millions of people [10]. The medicinal property of herbs is due to the presence of different complex chemical substance as secondary metabolites, which are exclusively accumulated in different parts of the plants [24]. The tropical, subtropical regions of India are rich with various kinds of herbs/plant species with good medicinal properties. The plant extracts contain wide range of secondary metabolites such as flavonoides, terpenoids, tannins, glycosides and alkaloids. These natural metabolites are important as potential antimicrobial crude drug and source for natural compounds as new anti-infection agents. [25]. The occurrence of bacterial diseases is becoming common in south Asia particularly in India, because of development of antibacterial drug resistant pathogens. To resolve the problem and to detect alternative chemotherapeutic agents, the search for novel forms from newer sources is global challenges [24].

Our present investigation for the newer antibacterial bioactive compounds targeted on the unexplored folk medicinal plants, being used for centuries in treating local population. The plant extracts are considered as best source of bioactive compounds particularly for traditional healers as they contain components of therapeutic values. The bioactive compounds have been detected for either bacteriostatic or bacteriocidal property and have very minimum or no toxicity to host. In this study, three different polarity plant extracts, *Ocimum sandum*,

Ocimum gratissimum, *Aegle marmelos*, *Adhatoda vasica* have been tested for antimicrobial activity on five different human clinical pathogens viz. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. In an earlier study Bishnu et al [26] observed that *Ocimum sanctum* and other natural plants extracts inhibit the growth of similar clinical pathogens. Among the three different extracts *Ocimum gratissimum* methanol extract showed highest antibacterial activity with a MIC of 0.039 mg/ml against *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* and MIC of 0.078 mg/ml active against *Staphylococcus aureus*. Similarly Adebolu et al [24] reported the steam distillation extracts of *Ocimum gratissimum* were highly effective against *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* and *E. coli* strains.

Apart from *Salmonella typhi* infection, *Salmonella paratyphi A* and B also widely persist in Indian population. The present study reported, methanol extracts of *Ocimum gratissimum* showed considerable inhibitory activity against both enteric isolates of *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* and reports of such similar work on enteric *Salmonella paratyphi* from scientific group is very minimal. The methanol extract of *Aegle marmelos* showed potent antimicrobial activity against clinical pathogenic *E. coli*; while Suresh et al [24] showed that *Aegle marmelos* leaf extracts having reasonable antibacterial activity against *E. coli*. In fact the results of different extracts of *Adhatoda vasica* shows less antibacterial activity against the clinical pathogenic isolates. On the other hand the *Klebsiella spp* was the most resistant of all the tested plant extracts and it is suggested that this bacterial strains may possess resistant mechanism and concentration of compound used may be lesser to inactivate the bacterial activity.

The results of the present study along with early reports concluded that the methanol extracts of traditional wild plant *Ocimum gratissimum*, *Ocimum sanctum* has potent antibacterial activity against the clinical human pathogens isolates particularly pathogenic *Salmonella typhi* and *salmonella paratyphi*. The traditionally used

Aegle marmelos leaves methanol extracts possess effective antibacterial activity against *E. coli*. The present investigation data on antibacterial potency of wild *Ocimum sanctum*, *Ocimum gratissimum*, *Aegle marmelos* helps to design further study for synthesis of novel antibiotics.

References

- [1] Molly Meri Robinson Classifications, Terminology and Standards, WHO, Geneva Xiaoru Zhang Traditional Medicines, WHO, 2011. traditional medicines: global situation, issues and challenges. 3rd Edition.
- [2] Essawi T, Sraut M. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacology* 2000 ;70 : 343-346.
- [3] Gordana Miovic, Bogdanika Andric, Dragica Terzic, Milena Lopicic, Stanica Gusevic. Antibiotic susceptibility Of *Salmonella* spp.: A Comparison Of Two Surveys With A 5 Years Interval. *Journal of IMAB -Annual Proceeding (Scientific Papers)* 2012 ; 18(1): 216 -219 .
- [4] Gobum B, Grassi GA, Finlay BB. *Salmonella*, the host and disease: A brief review. *Immunol, Cell. Biol.* 2007 ; (85): 112-118.
- [5] Sumathi P., Ravathi A. Antimicrobial activity of some traditional medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research* 2010; 4(4): 316-321.
- [6] Vadlapudi Varahalarao, Chandrashekar N K, In Vitro Bioactivity Of Indian Medicinal Plant *Calotropis Procera* (Art.). *Journal of Global Pharma Technology* 2010; 2(2): 43-45.
- [7] Bala Singh, Sheel Sharma, Jaya Dandev, Swagati Sharma, Diversified Potentials Of *Ocimum sanctum* (Tulsi): An Exhaustive Survey. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 2012; 2 (1):39-48.
- [8] Sathya, Nisha, Sathya, Nisha. Study of antibacterial activity of *Ocimum sanctum* extract against gram positive and gram negative bacteria. *American journal of food technology* 2011 ; 6(4): 328-341.
- [9] Sathya RN, Sathyanarayana OU, Sathyanarayana effects of two tropical plants extracts *Ocimum gratissimum* and *Azadirachta indica* on post harvest yam *Dioscorea sp. rot*. *Afr J Biotechnol*, 2010; 5 (6): 127-131.
- [10] Kingston C., Joseph S., Joseph G M., Suresh S, Mishra B P., Sankaranarayanan D. Indigenous Knowledge Of Using Medicinal Plants In Treating Skin Diseases In Kanyakumari District, Southern India. *Indian journal of traditional knowledge* 2009 ; 8(2):196-200.
- [11] Rajeshwari Sivaraj, Balakrishnan A, Thenmozhi M, Venkatesh R. Antimicrobial activity of *Aegle marmelos*, *Ruta graveolens*, *Ocimum sanctum*, *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus tereticornis*. *Journal of Pharmacy Research* 2011 ; 4: 1507-1508.
- [12] Gopalasamy rajiv gandhi, sivarimuthu ignacimuthu, michael gabriel Paulraj. Hypoglycemic and β -cells regenerative effects of *Aegle marmelos* (L.) Corr. Bark extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 2012; 50: 1667-1674.
- [13] Vijaya C, Ramasathan M, Suresh B. Lipid lowering activity of ethanolic extracts of leaves of *Aegle marmelos* (lin.) in hyperlipidemic models of wistar albino rats. *Indian journal of experimental biology* 2009 ; 47 (3): 182-185.
- [14] Varisha Reddy P, Sahana N, Ansa Uroci . Antioxidant activity of *Aegle marmelos* and *Pisidium Guajava* leaves. *Int. J. Med Arom. Plants* 2012 ; 2 (1): 155-160.
- [15] Marjeshwar Shrinath Baliga, Harshith P, Bhat, Marisha Maria Pereira, Nishan, Mathias, Panemone Venkatesh. Radioprotective Effects of *Aegle marmelos* (L.) Corres (Baef): A Concise Review. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 2010; 16 (10): 1109-1116.
- [16] Sumitha P., Thirunalasundari T. Hepatoprotective Activity of *Aegle marmelos* in CCl₄ Induced Toxicity - An In-vivo Study. *Journal of Phytology* 2011 ; 3(9): 05-09
- [17] Rajani JM, Jayanthi MK, Suresha RN. Evaluation of the anti-inflammatory activity of *Aegle marmelos* (Bilwa) root. *Indian J Pharmacol* 2011 ; 43: 393-397.
- [18] Trivedi HP, Pathak NL, Gavaniya, MG, Patel AK, Trivedi HD, Fanchal NM. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development* 2011 ; 3: 38-45.
- [19] Saradha JK, Subba Rao B. Antibacterial Activity of Extracts from *Aegle marmelos* against Standard Pathogenic Bacterial Strains. *International Journal of PharmTech Research* 2010; 2(3): 1824-1826.
- [20] Umamaheswari M, Chatterjee TK. In vitro antioxidant activities of the fractions of *Coccinia grandis* L. leaf extract. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 2011 ; 5: 61-70.
- [21] Vinothaposhan G, S under K. Wound healing effect of various extracts of *Adhatoda vasica*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2010; 1(4):530-536.
- [22] Haniyeh Koochak, Seyyed Mansour Seyyednejad, Hussein Molamed. Preliminary study on the antibacterial activity of some medicinal plants of Khuzestan (Iran). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2010; 3(3):180-184.
- [23] Nwinyi O binna, C, Chinedu Nwodo S, Anani Olayinka O, Iko Chinese O, Ogunrinan Kehinde O. Antibacterial effects of extracts of *Ocimum gratissimum* and piper guineense on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Food Science* 2010 ; 3(1): 022-025.
- [24] Indu MN, Hathi AM, Girish C, Harsha U, Vivekanandan G. Antimicrobial Activity of Some of the south-indian spices Against Serotypes of *Escherichia Coli*, *Salmonella*, *Listeria Monocytogenes* and *Aeromonas Hydrophila*. *Brazilian Journal of Microbiology* 2008 ; 37: 153-158.
- [25] Kadambar C . Antimicrobial activity of aqueous and ethanol extracts of nine Nigerian spices against four food borne bacteria. *Eur J Environ Agric food chem* 2009 ; 8(3): 195-200.
- [26] Sathya Sathya, Muhammad Jaber, Dany Sathya, Hellen Sathya, Nural Afifah Binti Abdulshamir. Antimicrobial activity of mangrove plant (*Lumnitzera littorea*) . *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2011; 4(7): 523-525.
- [27] wivedi SC, pudev R, Risha tyagi, Meeta Masand, Uma rdvani. Medicinal Bioactives as antimicrobial agents : an overview. *International journal of pharmaceutical research and development* 2011; 3(7) 24-30.
- [28] Ishnu J, Govind Prasad S, Suddha BS, Megh RB, Dinita S, Krishna S . et al. Phytochemical extraction and antimicrobial properties of different medicinal plants: *Ocimum sanctum* (tulsi), *eugenia caryophyllata* (clove), *Achyranthes bidentata* (catwan) and *Azadirachta indica* (neem). *Journal of Microbiology and Antimicrobials* 2011; 3(1): 1-7.
- [29] Debolu TT, Oladimeji SA. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* on selected diarrhoea causing bacteria in southwestern Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 2005; 4(7): 682-684.
- [30] Suresh K, Senthil Kumar PK, Karthikeyan B. Antimicrobial activity of *Aegle marmelos* against clinical pathogens. *Journal of Phytology* 2011; 1(5): 323-327.

