

Isolasi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Minyak Essensial Daun Torbangun (*Plectranthus Amboinicus* (Lour.) Spreng terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hilmarni^{*1}, Devahimer Harsep Rosi¹, Ariya Eka Kusuma¹

¹Akademi Farmasi Imam Bonjol Bukittinggi Sumatera Barat

*E-mail: hilmarniafzan@gmail.com

Abstrak

Plectranthus amboinicus merupakan tanaman yang telah lama digunakan sebagai obat dan makanan. Tumbuhan ini mengandung metabolit sekunder yang berhubungan dengan pemanfaatannya untuk pengobatan seperti tanin, saponin, flavonoid, glikosida steroid. Selain itu, kandungan daun dan batang *Plectranthus amboinicus* diantaranya adalah minyak atsiri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pada konsentrasi minyak esensial daun Torbangun yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan metode uji difusi agar. Konsentrasi minyak esensial Daun *Plectranthus amboinicus* yang digunakan adalah 1%, 2%, 4%, 6% dan 8%. Hasil penelitian menunjukkan minyak esensial Torbangun dengan konsentrasi 6 dan 8 % menunjukkan aktifitas sebagai antibakteri yang sangat kuat dengan diameter hambat 20,23 dan 22,83 mm. Hasil ini menguatkan penggunaan *Plectranthus amboinicus* dapat digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: Minyak esensial; Torbangun; *Staphylococcus aureus*; Antibakteri

Abstract

Plectranthus amboinicus is a plant that has long been used as medicine and food. This plant contains secondary metabolites related to its use for treatment such as tannins, saponins, flavonoids, steroid glycosides. In addition, the leaves and stems of *Plectranthus amboinicus* include essential oils. This study aims to determine the concentration of Torbangun leaf essential oil that can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. Antibacterial activity was determined by agar diffusion test method. The concentration of *Plectranthus amboinicus* leaf essential oil used was 1%, 2%, 4%, 6% and 8%. The results showed that Torbangun essential oil with concentrations of 6 and 8% showed very strong antibacterial activity with inhibitory diameters of 20.23 and 22.83 mm. These results confirm the use of *Plectranthus amboinicus* to treat infections caused by *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Essential oil; Torbangun; *Staphylococcus aureus*; Antibacteria

PENDAHULUAN

Plectranthus amboinicus tersebar di daerah tropis dan subtropis sebanyak 200 – 300 spesies terutama di Afrika. Di Indonesia, *Plectranthus amboinicus* merupakan tanaman yang telah lama digunakan sebagai obat dan makanan maupun di negara lain seperti India yang telah tercatat pada pengobatan ayurveda. *Plectranthus amboinicus* Tumbuhan asli Indonesia ini memiliki siklus hidup 3 – 10 tahun dan dikenal sebagai daun Jintan (Indonesia), ajeran (Sunda), Daun Kucing (Jawa), Bangun-bangun (Batak), Terbangun, Torbangun (Damanik, R., 2009).

Plectranthus amboinicus (Lour.) Spreng memiliki nama sinonim *Coleus amboinicus* Lour, *Coleus aromaticus* Lour, *Coleus carnosa* Hassk (De Padua *et al*, 1999). Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan pangan dan obat berhubungan dengan kandungan metabolit sekundernya (Silalahi, 2018). *Plectranthus amboinicus* mengandung metabolit sekunder seperti tanin, saponin, flavonoid, glikosida steroid, yang berhubungan dengan pemanfaatan tumbuhan ini untuk pengobatan (Asimwee). Identifikasi komponen senyawa ekstrak kasar daun bangun-bangun (*Coleus*

amboinicus, Lour.) dengan metode maserasi pernah dilaporkan dan golongan senyawa Bioaktifnya. Gurgel et (2009) telah melaporkan ekstrak hidroksialkohol *Plectranthus amboinicus* memiliki aktifitas antimikroba pada strain methicillin-resistente.

Kandungan daun dan batang *Plectranthus amboinicus* diantaranya adalah minyak atsiri. Minyak atsiri dapat diekstraksi dari tumbuhan aromatik yang memiliki kandungan minyak atsiri di dalamnya. Minyak atsiri merupakan senyawa yang memberikan aroma pada tumbuhan. Bahan baku minyak atsiri diperoleh dari berbagai bagian tumbuhan seperti daun, bunga, buah, biji, kulit biji, batang, akar, atau rimpang (Rusli, 2010).

Komponen utama dari daun *Plectranthus amboinicus* yaitu *Hexadecanoic acid* (44,04%), *9,12-Octadecadienoic acid* (24,38%), *Neophytadiene* (6,51%), *methyl 9,12,15-Octadecatrienoate, methyl ester* (5,81%), *17-acetoxy-19-Kauranal* (5,63%), *Hexadecanoic acid, methyl ester* (5,25%). Golongan senyawa ini memiliki potensi dalam pemanfaatannya sebagai antibakteri, antijamur, antioksidan, antimikroba, antikanker dan antifungi (Gurning.,K, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minyak essensial dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan informasi untuk pengembangan sediaan obat yang mengandung minyak essensial daun Torbangun selanjutnya.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari - Mei 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Parasitologi dan Farmakognosi Akademi Farmasi Imam Bonjol Bukittinggi.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan : destilasi

set minyak atsiri, gelas ukur, plat tetes, kapas, corong, aluminium foil, vial, spatel, timbangan, corong pisah, erlenmeyer dengan berbagai ukuran, cawan petri, tabung reaksi dan rak, gelas ukur, batang pengaduk, pipet tetes, pipet mikro, jarum ose, kertas cakram (Whatman® No.1), vial, kapas, kain kasa, benang, lampu spiritus, jangka sorong, spatel, pinset, lemari aseptis, autoklaf, timbangan analitik, inkubator, alkohol 70 %, aqua destillata, kloroform, amoniak, asam sulfat 2N, reagen meyer, FeCl₃, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, serbuk Mg, asam klorida pekat.

Prosedur kerja

Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun Torbangun (*Plectranthus amboinicus*) diambil di Akademi Farmasi Imam Bonjol Bukittinggi.

Identifikasi tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Andalas Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

Skrining Fitokimia

1. Pemeriksaan alkaloid

Sebanyak 2 gram sampel segar dirajang halus, digerus dengan bantuan sedikit pasir steril di dalam lumpang, tambahkan 10 ml kloroform amoniak 0,05 N, lalu digerus dan disaring ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml asam sulfat 2N, dikocok selama 1 menit, dibiarkan sampai terjadi pemisahan. Diambil lapisan asam, dipindahkan kedalam tabung reaksi lain, kemudian ditambahkan beberapa tetes reagen mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih atau endapan putih.

2. Pemeriksaan steroid, terpenoid, saponin dan senyawa fenolik

Sampel segar sebanyak 2 gram dipotong kecil, dididihkan dengan 25 ml aquadest selama 15 menit, disaring panas dan

filtratnya dikeringkan diatas penangas air. Ekstrak kering ditambahkan dengan air suling dan kloroform masing-masing 5 ml, lalu dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air digunakan untuk uji fenolik dan saponin. Uji fenolik dilakukan dengan cara menambahkan beberapa tetes FeCl_3 pada larutan air. Reaksi positif bila terbentuk warna biru kehitaman. Uji saponin dilakukan dengan mengambil 3 ml lapisan air kemudian dikocok kuat didalam tabung reaksi lain, terbentuk busa yang menetap selama 15 menit, berarti positif adanya saponin. Lapisan kloroform disaring dengan norit dalam pipet tetes, kemudian diteteskan pada plat tetes dan dibiarkan mengering. Setelah kering ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Terbentuk warna merah menunjukkan reaksi positif terpenoid, sedangkan terbentuk warna biru atau hijau berarti positif steroid.

3. Pemeriksaan flavonoid

Sebanyak 2 gram sampel segar dipotong halus, dididihkan dengan 25 ml aquadest dan disaring selagi panas. Filtrat diupkan sampai setengahnya. Diambilkan filtratnya dan diteteskan pada plat tetes lalu ditambahkan serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat, terbentuknya warna kuning sampai merah menunjukkan adanya flavonoid.

Penyulingan Minyak Essensial Daun Torbangun

Penyulingan dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap air dan metoda destilasi air. Metoda destilasi uap air dilakukan dengan cara daun Torbangun sebanyak 4 kg, dirajang halus lalu dimasukkan ke dalam ketel penyulingan yang di bawah saringan telah terisi air secukupnya, tutup rapat. Rangkaian alat dipasang kemudian uap air dialirkan melalui pendingin dan api dinyalakan. Uap air akan membawa minyak masuk ke dalam kondensor atau pendingin. Air dan minyak ditampung di

corong pemisah, dipisahkan air dan minyaknya. Selanjutnya ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat untuk menghilangkan gelembung air pada fase minyak atsiri. Minyak atsiri disaring menggunakan kertas saring dan di simpan ke dalam wadah. Destilasi dilakukan selama 1-2 jam (Sari & Chairul, 2005).

Metoda destilasi air dilakukan dengan cara daun Torbangun segar sebanyak 4 kg, dirajang halus lalu dimasukkan ke dalam labu destilasi lalu diberi air secukupnya. Rangkaian alat dipasang kemudian uap air dialirkan melalui pendingin dan api dinyalakan. Uap air akan membawa minyak masuk ke dalam kondensor atau pendingin. Air dan minyak ditampung di corong pemisah, dipisahkan air dan minyaknya. Selanjutnya ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat untuk menghilangkan gelembung air pada fase minyak atsiri. Minyak atsiri disaring menggunakan kertas saring dan di simpan ke dalam wadah. Destilasi dilakukan selama 1-2 jam (Djarot, *et al.*, 2019).

Pemeriksaan Aktivitas Antibakteri

1. Sterilisasi alat dan bahan

Semua alat yang akan disterilkan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Tabung reaksi, cawan petri, pipet, dan corong dibungkus dengan kertas perkamen. Erlenmeyer, gelas ukur, vial mulutnya ditutup dengan kapas, dan dibungkus dengan perkamen. Peralatan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 15 lbs selama 15 menit. Medium perbenihan bakteri uji juga disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 15 lbs selama 15 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara memflambier pada lampu spiritus, lemari aseptis dibersihkan dari debu dan disemprot dengan etanol 70 %, dibiarkan 15 menit dan dikeringkan dengan kertas tisu (Farmakope Indonesia IV, 1995).

2. Pembuatan media perbenihan

Sebanyak 34 gram serbuk Muller Hinton Agar (MHA) dilarutkan dalam 1 liter air suling, dipanaskan sampai mendidih

sambil diaduk hingga terlarut sempurna. Disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs, selama 15 menit.

3. Penyiapan suspensi bakteri uji

Bakteri uji dari stok kultur murni ditanam pada agar miring MHA, dan diinkubasi selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37° C. Setiap 15 hari sekali dilakukan pemindahan bakteri pada agar miring baru. Diambil bakteri dari agar miring NA dengan jarum ose, kemudian disuspensikan ke dalam pelarut NaCl fisiologis 0,9%, diaduk sampai homogen.

4. Pembuatan inokulum dan larutan uji

Sebanyak 0,1 ml suspensi bakteri uji dimasukkan ke dalam cawan petri. Kemudian ditambahkan 15 ml medium MHA (50°C). Dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Larutan uji disiapkan dengan melarutkan Minyak atsiri daun Torbangun dalam Dimethyl Sulfoxida (DMSO) dengan berbagai konsentrasi yaitu pada konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 4%, 6% dan 8%.

5. Pengujian aktivitas antibakteri minyak esensial Torbangun dengan metoda difusi agar.

Pada inokulum bakteri uji yang telah memadat diletakkan kertas cakram steril yang telah ditetesi larutan uji sebanyak 10 µl dengan konsentrasi 2%, 4%, 6 % dan 8% dengan menggunakan pipet mikro. Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati adanya pertumbuhan bakteri uji dan diukur diameter daerah hambatan dengan jangka sorong. Sebagai kontrol negatif digunakan kertas cakram steril yang ditetesi DMSO sebanyak 10 µl dan untuk kontrol positif digunakan kertas cakram steril yang telah ditetesi larutan antibiotik Klindamisin sebanyak 10 µl dengan kadar 30 µg/cakram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan sampel segar daun Torbangun yang diambil di Bukittinggi. Sebelumnya telah dilakukan Uji

Identifikasi sampel di Hebarium Universitas Andalas yang diketahui memiliki nama spesies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.). Pemeriksaan pendahuluan kandungan kimia dari daun Torbangun menunjukkan adanya senyawa flavonoid, terpenoid, saponin, dan fenolik. Gurning, K (2015) melaporkan kandungan senyawa bioaktif Torbangun diantaranya senyawa fenolik, kumarin, flavanoid, alkaloid, dan juga mengandung minyak atsiri.

Analisis proksinamat pada daun torbangun mengandung karbohidrat 81,83%, kalium 292,17%, vitamin A 11.335,77 IU/100 g, vitamin C 168,41 (mg/100 g), dan energi 359,95 kkal. Analisis fitokimia menunjukan kadar atsiri daun torbangun segar 0,0031%, kadar simplesianya sebesar 0,2%. Komponen atsiri terdiri dari bahan aktif thymol 94%, forskholin 1,5%, dan carvacrol 1,2%. Hasil analisis bahan aktif flavonoid dalam ekstrak dengan menggunakan HPLC (*high performance liquid chromatography*) mengandung bahan aktif flavonoid dari jenis trihidroksi isoflavan, kaempferol glikosida dan 2-hidroksi khalkon (Hutajulu & Junaidi, 2013).

Dari 4 kg Daun Torbangun segar diperoleh minyak esensial sebanyak 0,5 mL dengan metoda destilasi uap air. Sedangkan dengan metoda destilasi, dari 4 kg daun Torbangun segar diperoleh minyak esensial sebanyak 0,7 mL. Perolehan minyak dari 2 metoda yang digunakan tidak sama, hal ini disebabkan karena adanya keuntungan dan kelemahan dari masing-masing metoda. Penelitian sebelumnya telah melaporkan Tanaman daun bangun- bangun (*Coleus amboinicus*, Lour.) mengandung minyak atsiri dengan rendemen kondisi kering 6,5% dan 0,031% untuk kondisi basa (Hutajulu dkk., 2008).

Minyak esensial Torbangun memiliki variasi dalam jenis, struktur maupun konsentrasinya. El-hawary *et al.* (2013) melaporkan bahwa kandungan minyak atsiri memiliki variasi perolehan yaitu sebesar 0,12% v/b berat basah di daun dan 0,13% di batang.

Metode isolasi senyawa minyak atsiri telah banyak dilakukan diantaranya dengan metode maserasi yaitu dengan perendaman menggunakan berbagai pelarut organik, destilasi, destilasi uap (penyulingan), perkolasi, dan sokletasi. Setiap metode isolasi tersebut memiliki kelebihan dan kelemahan masing-masing.

Destilasi uap air banyak dilakukan pada dunia industri minyak atsiri karena menggunakan sedikit air sehingga menghemat waktu dan biaya dalam proses

produksi. Rendemen minyak yang dihasilkan pun lebih banyak dibandingkan dengan metode hidrodistilasi, hasil yang didapatkan pun tidak mudah terhidrolisis (Wahyuningtias, 2020). Namun, pada penelitian yang dilakukan metoda destilasi uap air lebih sedikit menghasilkan minyak essensial dibandingkan dengan metoda air, hal ini disebabkan karena adanya kehilangan minyak pada saat pemisahan gelembung air pada fase minyak essensial.



Gambar 1. Minyak Essensial daun Torbangun

Minyak essensial yang diperoleh memiliki bentuk cair, warna kuning pucat, bau dan rasa khas Torbangun. Asiimwe et al (2014) telah melaporkan, minyak essensial utama yang terdapat pada daun *ambonicus* adalah linalool (50,3%), nerol asetat (11,6%), geranyl asetat (11,7%) dan carvacrol (14,3%) (Asiimwe *et al.* 2014). Disamping itu, Komponen utama yang mempengaruhi cita rasa pada tanaman ini adalah carvacrol dan timol (Wadikar dan Patki 2016).

Metoda yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri adalah difusi agar dengan menggunakan kertas cakram sebagai pencadang (*reservoir*). Metoda difusi

dipilih karena metoda ini relatif lebih sederhana dan praktis dibandingkan dengan metoda dilusi dan bioautografi dan hasil yang didapat cukup teliti untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri. Daerah bening disekeliling cakram menunjukkan bahwa sampel mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (Waluyo.,L, 2012). Adapun faktor yang mempengaruhi pengujian aktivitas antibakteri dengan metoda ini adalah kecepatan difusi dari zat yang berbeda dan perbedaan respon dari bakteri terhadap zat uji. Maka hal inilah yang menyebabkan perbedaan diameter hambat yang dihasilkan.



Gambar 2. Pengujian daya hambat minyak essential Torbangun terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil uji daya hambat minyak essential daun Torbangun terhadap *Staphylococcus aureus* (Tabel 1) menunjukkan adanya aktifitas antibakteri pada konsentrasi 2%, 4%, 6% dan 8%. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan adanya daerah bening disekitar cakram. Minyak essential Torbangun dengan konsentrasi 6 dan 8 % menunjukkan aktifitas sebagai antibakteri yang sangat kuat dengan diameter hambat 20,23 dan 22,83 mm. Disamping pengujian terhadap minyak essential daun Torbangun, Esterina *et al* (2017) telah melaporkan bahwa sediaan gel ekstrak etanol 70% daun

Torbangun memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat yaitu 20,67 mm. Gurning,K (2015) melaporkan minyak essential Torbangun memiliki potensi yang dapat dimanfaatkan sebagai antijamur, antibakteri, antioksidan, antimikroba, antikanker dan antifungi. Beberapa komponen senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai antibakteri pada minyak essential Torbangun adalah *Hexadecanoic acid*, *9,12,15-Octadecatrienoic acid*, *methyl ester*, dan *Neophytadiene*.

Tabel 1. Hasil uji daya hambat minyak essential daun Torbangun terhadap *Staphylococcus aureus*

Bahan uji	Diameter daya hambat (mm)
Klindamisin 0,01%	21,80 ± 0,32
Kontrol negatif (DMSO)	-
Minyak essential 1 %	7,33 ± 0,17
Minyak essential 2 %	8,53 ± 0,11
Minyak essential 4 %	17,70 ± 0,66
Minyak essential 6 %	20,23 ± 0,9
Minyak essential 8 %	22,83 ± 1,83

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan minyak essensial daun Torbangun memiliki aktivitas antibakteri yang sangat kuat pada konsentrasi 6 dan 8 % terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada LPPM Akademi Farmasi Imam bonjol atas bantuan dana Hibah Penelitian Dosen Pemula yang diberikan serta seluruh dosen pengajar dan staf laboran Akademi Farmasi Imam Bonjol Bukittinggi serta mahasiswa yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- Asiimwe S, Karlsson AB-, Azeem M, Mugish KM, Namutebi A, Gakunga NJ. Chemical Composition and Toxicological evaluation of The Aqueous Leaf Extracts of *Plectranthus amboinicus* Lour. Spreng. *Int J Pharm Sci Invent*. 2014;3(2):19-27.
- Damanik R 2009. Summary Statement : Torbangun (*Coleus amboinicus* Lour): A Batakese Traditional. *J Hum Lact*. 2015:64-72. doi:10.1177/0890334408326086.
- Djarot, P., Moerfiah, dan D. Ambarwati, 2019. Lilin Aromatik Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) Sebagai Repelen Lalat Rumah (*Musca dosmetica*), *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup* 19(2): 55-64.
- De Padua, L.S., Bunyapraphatsara and Lemmens, R.H.M.J. 1999. *Plant resources of South-East Asia no 12(1)*. Backhuys Publishers, Leiden.
- El-hawary, S.S., El-sofany, R.H., Abdel-Monem, A.R., Ashour, R.S., and Sleem, A.A. 2013. Seasonal variation in the composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil and its biological activities. *American Journal of Essential Oils and Natural Products* 1(2): 11-18.
- Esterina dan Zuraida.2017. Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanol 70% Daun Bangun-Bangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.)Spreng.). *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*.
- Gurgel APAD, Silva JG, Grangeiro ARS, et al. Antibacterial Effects of *Plectranthus amboinicus* (Lour .) Spreng (Lamiaceae) in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Lat Am J Pharm*. 2009;28(3):460-464.
- Gurning,K.,2015, Identifikasi Komponen Minyak Atsiri dan Potensi Daun Bangun-Bangun (*Coleus amboinicus*, Iour.), Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VII, Penguatan Profesi Bidang Kimia dan Pendidikan Kimia, *Prosiding*, UNS Surakarta
- Hutajulu, T., & Junaidi, L. 2013. Manfaat Ekstrak Daun Bangun-Bangun (*Coleus Emboinicus* L.) Untuk Meningkatkan Produksi Air Susu Induk Tikus. In *Indonesian Journal of Industrial Research*.
- Hutajulu, T.F., Irma, H., Rienoviar, S., Dede., dan Meity, S., 2008, Isolasi dan identifikasi senyawa flavanoid dan alkaloid dari herbal bangun-bangun (*Coleus amboinicus* Lour.) dan katuk (*Sauropus Andrigynus* Merr), *Laporan Penelitian*, BBIA, Bogor.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 1995, Farmakope Indonesia edisi IV, Jakarta
- Rusli, M. 2010. "Sukses Memproduksi Minyak Atsiri". Argo Media Pustaka: Jakarta
- Sari, I. D., dan Chairul, 2005. Penentuan Waktu Penyulingan dari Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus*) Untuk Memperoleh Kadar Maksimal Minyak Atsiri, *Media Lubang* XV(4):20-25.

- Silalahi M. Sebagai Bahan Pangan Dan Obat Serta Bioaktivitasnya, *Plectranthus Amboinicus* (Lour .) Spreng sebagai Bahan Pangan dan Obat serta Bioaktivitasnya. *JDP*. 2018;11(2):123-138.
- Wadikar, D.D., and Patki, P.E. 2016. *Coleus aromaticus*: a therapeutic herb with multiple potentials. *J Food Sci Technol*. 53(7): 2895-2901.
- Waluyo,Lud.,2012, *Mikrobiologi Umum*, Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang.