

Pengaruh Penambahan Minyak Nilam Sebagai Bahan Aditif Pada Sabun Cair Dalam Upaya Meningkatkan Daya Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*

Aji Hendra Sarosa*^{1,2}, Hafizh Tandiyanto P¹, Benny Imam Santoso¹, Vivi Nurhadianty^{1,2}, Chandrawati Cahyani^{1,2}

¹Program Studi Teknik Kimia Universitas Brawijaya; Jl. MT. Haryono No. 167, Malang, 65145, Telp: (0341) 587710

²Institut Atsiri Universitas Brawijaya; Gd. Senat Lt. 1, Jl. Veteran, Malang, 65145, Telp: (0341) 4376580

e-mail: *¹aji.hs88@ub.ac.id

Abstrak

Patchouli alcohol yang terkandung pada minyak nilam memiliki kemampuan antiemetic, antibacterial dan antifungal. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada kulit manusia dan mengakibatkan infeksi. Salah satu cara dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah menggunakan sabun antibakteri. Komponen antibakteri yang terdapat pada minyak nilam dapat menjadi aditif pada sabun. Minyak nilam dianalisis dengan GC-MS (*Gas Chromatography–Mass Spectrometry*) dan memiliki komponen penyusun terdiri dari *patchouli alcohol* (32,60%), *delta-guaiene* (23,07%), *alpha-guaiene* (15,91%), *seychellene* (6,95%), dan *alpha-patchoulene* (5,47%). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan minyak nilam pada daya antibakteri dari sabun cair. Bahan aktif yang digunakan pada sabun cair yaitu *Sodium Lauryl Sulfat* (Texapon N70). Bakteri *Staphylococcus aureus* diujikan dengan cara mensuspensikan dalam nutrient broth (NB). Bakteri tersebut distandarisasi dengan larutan standar 0,5 Mc Farland. Minyak nilam yang ditambahkan ke dalam sabun cair dengan konsentrasi sebesar 0%; 0,5%; 1%; 1,5%, dan 2% (v/v). Hasil penelitian ini yaitu penambahan minyak nilam dapat meningkatkan daya antibakteri sabun cair terhadap *Staphylococcus aureus* yang terbesar dengan penambahan 2% v/v minyak nilam.

Kata kunci— *Staphylococcus aureus*, minyak nilam, antibakteri, sabun cair

Abstract

Patchouli alcohol contained in patchouli oil has antiemetic, antibacterial and antifungal ability. *Staphylococcus aureus* bacteria can grow on human skin and serve infections. One way to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* is to use antibacterial soap. An antibacterial component available on patchouli oil can be an additive to soap. Patchouli oil is analyzed by GC-MS (*Gas Chromatography - Mass Spectrometry*) and has a constituent component of *patchouli alcohol* (32.60%), *delta-guaiene* (23.07%), *alpha-guaiene* (15.91%), *seychellene* (6.95%), and *alpha patchoulene* (5.47%). This study was conducted to determine the effect of patchouli oil on the antibacterial power of liquid soap. The active ingredient used at the time was *Sodium Lauryl Sulfate* (Texapon N70). *Staphylococcus aureus* bacteria were tested by suspending in nutrient broth (NB). The bacteria are standardized with a standard 0.5 Mc Farland. Patchouli oil is added to the liquid soap with a concentration of 0%; 0.5%; 1%; 1.5%, and 2% (v / v). The results of this study are patchouli oil can increase the antibacterial power of liquid soap against *Staphylococcus aureus* the largest with the addition of 2% v / v patchouli oil.

Keywords— *Staphylococcus aureus*, patchouli oil, antibacterial, liquid soap

1. PENDAHULUAN (INTRODUCTION)

Patchouli oil atau di Indonesia dikenal sebagai minyak nilam merupakan salah satu minyak atsiri yang dihasilkan dari tanaman nilam. Minyak atsiri adalah salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman, baik dari daun, batang maupun buah. Minyak nilam memiliki komponen penyusun terbesar yaitu *patchouli alcohol* (32,60%) dan komponen lain yaitu, *delta-guaiene* (23,07%), *alpha-guaiene* (15,91%), *seychellene* (6,95%) dan *alpha-patchoulene* (5,47%) [1]. *Patchouli alcohol* memiliki kemampuan sebagai zat *antibacterial*, *antiemetic* dan *antifungal* [2]. Yang membuktikan bahwa minyak nilam memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Hasil nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari minyak nilam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 4,5 mg/mL [3].

Bakteri *staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif. Bakteri ini bersifat patogen dan dapat menginfeksi kulit manusia. *Staphylococcus aureus* yang berlebih juga dapat menyebabkan keracunan makanan [4]. Pemakaian sabun antibakteri dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* pada kulit manusia.

Pemanfaatan minyak atsiri sebagai komponen antibakteri telah banyak diteliti. Febrianti melakukan penelitian berkaitan dengan minyak atsiri jeruk purut (*Citrus hystrix DC*). Minyak jeruk purut tersebut yang digunakan sebagai bahan aditif pada sabun cair. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya peningkatan daya antibakteri dari sabun yang diberi minyak atsiri [5]. Syafrudin dan Eka Kurniasih menyatakan sabun transparan antiseptik dengan basis minyak nilam telah memenuhi kriteria sabun transparan, tetapi besarnya daya antibakteri sabun transparan tersebut belum diketahui [6]. Penelitian lain yang dilakukan oleh Widyastuti dan Farizal menunjukkan bahwa minyak nilam dapat diformulasikan dalam bentuk gel. Gel tersebut memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan besarnya daya antibakteri sudah diketahui [7].

Penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa minyak nilam memiliki kemampuan sebagai komponen antibakteri, namun penelitian tentang penggunaan minyak nilam sebagai komponen aditif pada sabun cair belum ada. Oleh karena itu, penelitian ini mengkaji pengaruh penambahan minyak nilam untuk meningkatkan daya antibakteri pada sabun cair terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. METODE PENELITIAN (MATERIALS AND METHODS)

2.1 Alat dan Bahan

Penelitian dilakukan dengan menggunakan bahan baku minyak nilam yang diperoleh dari Laboratorium Lapang Institut Atsiri, Universitas Brawijaya yang berada di desa Kesamben, Blitar. Biakan bakteri berupa *Staphylococcus aureus* didapat dari Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Brawijaya. Pembiakan *Staphylococcus aureus* menggunakan nutrient broth. Pembuatan sabun menggunakan bahan baku asam stearat, KOH (*potassium hydroxide*), asam sitrat, gliserin, NaCl (Merck), propilen glikol dari PT Brataco, texapon N70 (*Sodium Lauryl Sulfat*), EDTA Na (Saka Kimia), aquadest.

Peralatan utama yang digunakan autoklaf dengan merk HICLAVE HVE-50, shaker merk Wisd SHO-2D, hot plate dan stirrer, inkubator merk Memmert, spektrofotometer UV-VIS merk Optizen, dan Turbidimeter merk Lovibond untuk membantu pembuatan larutan standart mc Farland.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Analisis Komponen

Komponen minyak nilam dianalisis menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography–Mass Spectrometry*) yang berada di Laboratorium Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Kolom yang digunakan yaitu kolom "Rtx®-5MS" pada suhu injeksi 300°C dan injeksi *split* pada tekanan 20,8 kPa.

2.2.2 Larutan standar 0,5 Mc Farland

Larutan standar McFarland digunakan sebagai pembanding jumlah koloni bakteri pada medium cair yang digunakan untuk pengujian daya anti bakteri dengan range kepadatan koloni tertentu. Kekeruhan dari larutan standar 0,5 McFarland sebanding dengan jumlah koloni sel sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Larutan standar 0,5 McFarland dibuat dari BaCl₂ 1 % sebanyak 5 ml dihomogenisasikan dengan asam sulfat 1% sebanyak 99,5 ml [8]. Larutan 0,5 McFarland diuji menggunakan Uv-Vis dan memiliki absorbansi 0,08-0,1 pada saat panjang gelombang 625 nm [9]. Kekeruhan larutan standar 0,5 Mc Farland dapat diukur menggunakan turbidimeter dan kekeruhan yang dihasilkan sebesar 73 ± 1 NTU.

2.2.3 Pembuatan kultur kerja

Biakan bakteri berupa *Staphylococcus aureus* disuspensikan pada media *nutrient broth*. Kemudian *staphylococcus aureus* diinkubasi pada erlenmeyer dan *shaker* pada kondisi ruang selama 24 ± 1 jam secara anaerob. Kultur kerja berupa suspensi *Staphylococcus aureus* diuji dan dibandingkan kekeruhannya dengan larutan standar 0,5 McFarland menggunakan turbidimeter hingga menunjukkan nilai yang sama sebesar 73 ± 1 NTU. Hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah koloni sel bakteri *staphylococcus aureus* sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Setelah kekeruhan kultur kerja mendekati larutan standar maka kultur kerja siap diinokulasikan untuk digunakan dalam uji bakteri.

2.2.4 Pembuatan sabun cair

Sabun dibuat dengan mencampurkan berbagai bahan. Asam stearat sebanyak 15 g dicampurkan dengan 200 g Texapon. Pencampuran kedua komponen tersebut dilakukan pada temperatur $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan disebut campuran pertama. Aquadest sebanyak 500 mL, 25 g propilen glikol, 50 g gliserin dan 1 g EDTA Na diaduk hingga homogen, selanjutnya dimasukkan ke dalam campuran pertama dan diaduk pada temperatur $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ sampai kondisi homogen (campuran kedua). KOH sebanyak 2,97 g dilarutkan dalam 12 mL aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam campuran kedua dan diaduk selama 30 menit. Campuran tersebut didinginkan hingga temperatur ruang (campuran ketiga).

Asam sitrat sebanyak 12,5 mL ditambahkan ke dalam campuran ketiga dan diaduk, selanjutnya ditambahkan 2 g NaCl. Minyak nilam ditambahkan ke dalam campuran pada akhir pembuatan sabun dengan berbagai konsentrasi 0,5 %, 1%, 1,5 %, dan 2% (% volume nilam/volume sabun cair). Selanjutnya untuk mengetahui efektivitas pemakaian sabun tersebut, maka sabun cair diencerkan pada berbagai variasi, yaitu sebesar 1:0, 1:10, dan 1:100 (% volume sabun cair/volume aquades).

2.2.5 Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan dengan mengambil kertas cakram dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam sabun cair sampai terbasahi. Selanjutnya kertas cakram ditiriskan dari sabun cair agar tidak menetes. Kertas cakram yang mengandung sabun cair ditempelkan pada permukaan media *nutrient broth* cawan petri yang sudah diinokulasikan dengan kultur kerja. Kemudian diinkubasikan dalam inkubator pada kondisi anaerob pada suhu $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 ± 1 jam. Prosedur ini dilakukan untuk konsentrasi minyak nilam pada sabun cair yang bervariasi dan pada pengenceran sabun cair. Diameter zona bening yang dihasilkan akan diukur menggunakan jangka sorong.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN (RESULT)

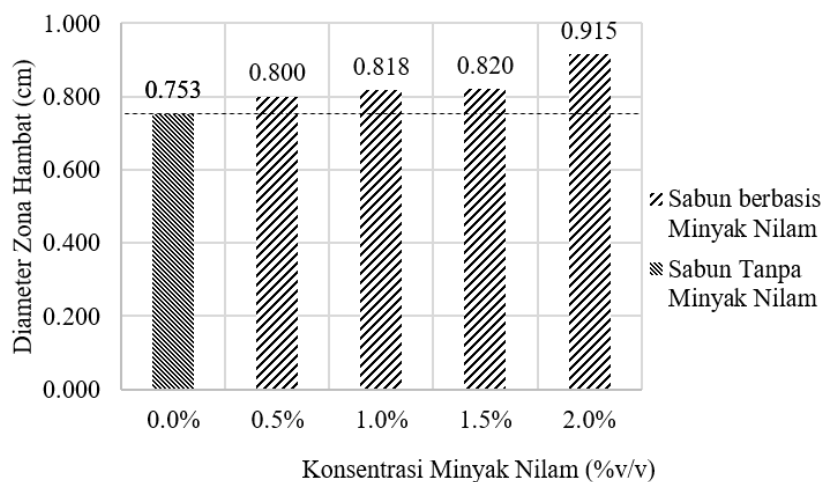
3.1 Pengaruh Penambahan Minyak Nilam terhadap Zona Hambat yang terbentuk

Kemampuan daya hambat bakteri pada sabun cair sebagai antibakteri sangat dipengaruhi oleh zat aktif yang terkandung dalam sabun tersebut. Minyak nilam memiliki komponen aktif yang berupa *patchouli alcohol* dan komponen tersebut memiliki daya antibakteri. Minyak nilam yang digunakan dalam penelitian ini diuji menggunakan GC-MS. Minyak nilam tersebut memiliki komponen aktif *patchouli alcohol* dengan kadar sebesar 55%. Komposisi minyak nilam dari hasil GC-MS ditunjukkan pada tabel 1. Komposisi sabun yang digunakan sesuai dengan tabel 1.

Tabel 1 Hasil Analisa GC-MS Kandungan Minyak Nilam

No	Nama Komponen	Komposisi
1	<i>Alpha Guanine</i>	6%
2	<i>Seychellene</i>	6%
3	<i>Alpha Patchoulene</i>	4%
4	<i>Trimethylsiloxytetrasiloxane</i>	1%
5	<i>Delta Guanine</i>	12%
6	<i>Hexadecamethylcyclooctasiloxane</i>	4%
7	<i>Patchouli Alcohol</i>	55%
8	<i>Heptamethyl-bis-(trimethylsiloxy)tetrasiloxane</i>	5%
9	<i>Silicate Anion Tetramer</i>	3%
10	<i>Benzoic Acid</i>	2%
11	<i>Eicosamethyl Cyclodecasiloxane</i>	2%
12	<i>Dihydroxy Benzoic Acid</i>	1%
Total		100%

Pengaruh konsentrasi minyak nilam sebagai aditif pada sabun cair terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi Minyak Nilam pada Sabun Cair dengan Diameter Zona Hambat pada *Staphylococcus aureus*

Gambar 1 menunjukkan bahwa sabun cair tanpa minyak nilam memiliki diameter zona hambat sebesar 0,753 cm. Formulasi sabun cair yang tanpa minyak nilam juga memiliki daya hambat anti bakteri terhadap *staphylococcus aureus*. Sabun cair tersebut memiliki komponen bahan aktif texapon N70 (*Sodium Lauryl Sulfat*) yang merupakan surfaktan anionik. Moore

menyatakan bahwa surfaktan anionik memiliki daya antibakteri terhadap jenis bakteri gram positif [10]. *Staphylococcus aureus* merupakan jenis bakteri gram positif, sehingga komponen aktif tersebut dapat menghambat bakteri *staphylococcus aureus* [11]. Surfaktan tersebut tersusun dari komponen dengan rantai hidrofilik dan hidrofobik. Rantai hidrofobik memiliki sifat nonpolar dan terdiri dari rantai alkil yang tersusun oleh atom karbon. Rantai hidrofobik ini berikatan dengan rantai hidrofilik yang memiliki sifat polar. Rantai hidrofobik akan berinteraksi dan terakumulasi pada membran sel bakteri, sehingga menambah volume dari membran dan membran akan mengalami *swelling*. Akibat dari *swelling* akan meningkatkan permeabilitas dari membran sel sehingga organela sel seperti mitokondria dan nukleus akan keluar dari sel [12].

Penambahan minyak nilam sebesar 0,5 - 2% v/v yang memiliki komponen aktif *patchouli alcohol* dalam sabun cair meningkatkan diameter zona hambat hingga mencapai 21,5%. Hasil ini sesuai dengan penelitian Thormar menyatakan bahwa semakin banyak penambahan minyak nilam maka akan menyebabkan kerusakan sel semakin besar, sebaliknya semakin kecil konsentrasi yang diberikan semakin kecil kerusakan yang dihasilkan [13].

Peningkatan diameter zona hambat yang dihasilkan selain karena adanya komponen *patchouli alcohol*, tetapi juga disebabkan adanya senyawa terpenoid pada minyak nilam seperti *seychellene*, *alpha guanine*, *delta-guanine*, dan *alpha-patchoulene*. Membran sel pada bakteri *staphylococcus aureus* dirusak oleh senyawa terpenoid terpenoid pada minyak nilam tersebut. Menurut Thormar komponen minyak nilam yang berinteraksi dengan sel *staphylococcus aureus* dapat berdifusi secara pasif melalui membran sel. Membran sel pada bakteri dan senyawa terpenoid pada minyak nilam sama-sama bersifat hidrofobik, sehingga memudahkan senyawa terpenoid akan berdifusi ke dalam membran sel dan masuk ke lipid bilayer. Akumulasi molekul terpen pada lipid bilayer akan meningkatkan volume membran sel sehingga mengakibatkan pembengkakan (*swelling*) sampai hancur. Pembengkakan pada membran sel *staphylococcus aureus* akan menurunkan kemampuan dari membran sel dalam mengatur keluar masuknya suatu komponen sehingga komponen intraseluler dapat keluar dari dalam sel [13]. Fenomena keluarnya komponen intraseluler mengakibatkan bakteri mati.

Peningkatan diameter zona hambat dapat diduga juga disebabkan oleh mekanisme lain dengan adanya gugus hidroksil (-OH) pada *patchouli alcohol*. Gugus hidroksil tersebut akan menyebabkan terjadinya peristiwa peroksidasi lemak yang nantinya menyebabkan terjadinya perusakan fosfolipid yang merupakan bagian dari komponen struktural pada bakteri *staphylococcus aureus*. Ion hidroksil menghilangkan atom hidrogen dari asam lemak tak jenuh, sehingga menghasilkan *free lipidic radical*. Senyawa tersebut bereaksi dengan oksigen dan menyebabkan pembentukan lemak peroksida radikal yang akan bereaksi dengan asam lemak tak jenuh lainnya. Lemak peroksida radikal menjadi senyawa radikal bebas yang menginisiasi reaksi autokatalitik berantai yang menyebabkan perusakan lemak peroksida lainnya dan menyebabkan kerusakan pada membran sel tersebut [14].

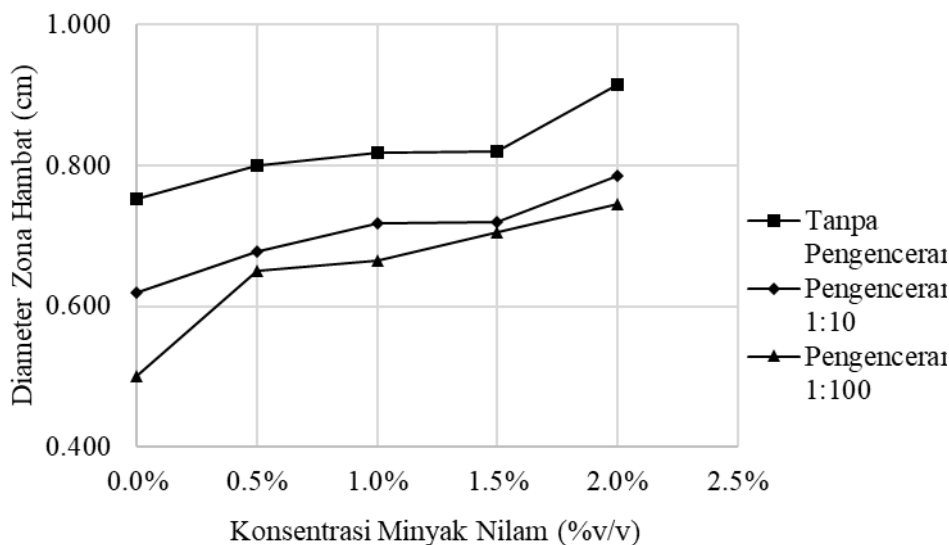
3.2 Pengaruh Pengenceran sebagai efektifitas sabun terhadap Zona Hambat yang terbentuk

Uji antibakteri juga dilakukan pada sabun cair yang sudah diencerkan dengan pengenceran 1:10 dan 1:100 untuk mengetahui efektifitas daya antibakteri yang dihasilkan. Pengenceran digunakan sebagai pendekatan untuk mengetahui efektifitas dari sabun cair dalam penggunaannya sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Perbandingan diameter zona hambat oleh sabun cair yang ditambah minyak nilam tanpa pengenceran dengan pengenceran dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Diameter Zona Hambat

Pengenceran	Konsentrasi Minyak Nilam (%v/v)	Diameter Zona Hambat (cm)
Tanpa Pengenceran	0,0%	0,753
	0,5%	0,800
	1,0%	0,818
	1,5%	0,820
	2,0%	0,915
Pengenceran 1:10	0,0%	0,620
	0,5%	0,678
	1,0%	0,718
	1,5%	0,720
	2,0%	0,785
Pengenceran 1:100	0,0%	0,500
	0,5%	0,650
	1,0%	0,665
	1,5%	0,705
	2,0%	0,745

Perubahan daya antibakteri sabun cair pada tanpa pengenceran, pengenceran 1:10, dan 1:100 ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Grafik Daya Antibakteri Sabun Cair Berbahan Aktif Minyak Nilam pada Berbagai Konsentrasi dengan Pengenceran 1:0, 1:10, dan 1:100

Gambar 2 menunjukkan bahwa sabun cair tanpa minyak nilam tanpa pengenceran memiliki diameter zona hambat 0,753 cm yang berada dibawah diameter zona hambat efektif yang seharusnya diameter zona hambat efektif terhadap bakteri *staphylococcus aureus* minimal berdiameter 1 cm [8]. Diameter zona hambat pada sabun cair tanpa minyak nilam sebesar 0,753 cm mengalami penurunan yang signifikan sebesar 34% ketika diencerkan sebesar 1:10 sehingga didapatkan diameter zona hambat sebesar 0,500 cm. Diameter zona hambat yang mendekati 1 cm dihasilkan oleh sabun cair yang ditambahkan minyak nilam sebesar 2,0% (v/v). Penambahan minyak nilam memberikan memberikan peningkatan diameter zona hambat.

Penambahan minyak nilam 0,5% (v/v) pada sabun cair menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar 30% dibandingkan dengan sabun cair tanpa minyak nilam dalam pengenceran 1:100. Penambahan minyak nilam dengan konsentrasi 0,5% (v/v) pada sabun cair dengan pengenceran 1:100 menghasilkan diameter zona hambat lebih besar 5% dibandingkan dengan sabun cair tanpa minyak nilam pada pengenceran 1:10. Selain itu, sabun cair dengan konsentrasi minyak nilam sebesar 2% (v/v) dengan pengenceran 1:10 dan 1: 100 memiliki diameter zona hambat yang mendekati sabun cair tanpa minyak nilam pada pengenceran 1:0 dengan selisih 4% dan 1%. Namun diameter zona hambat yang dihasilkan pada semua sampel berada di bawah diameter zona hambat efektif. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi diatas 2% untuk mengetahui diameter zona hambat yang efektif.

Penurunan diameter zona hambat pada sabun cair tanpa minyak nilam dan sabun cair dengan minyak nilam yang diencerkan disebabkan oleh kurangnya daya antibakteri pada formulasi sabun cair. Hal ini diduga berhubungan dengan zat aktif yang terdapat pada sabun cair tersebut. Daya hambat anti bakteri pada sabun cair tanpa minyak nilam bersumber dari surfaktan berupa *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS). Sedangkan pengenceran menurunkan konsentrasi zat antibakteri pada sabun cair. Menurut Thormar konsentrasi zat antibakteri yang rendah menyebabkan *Staphylococcus aureus* dapat beradaptasi dan melindungi diri dari efek aktivitas antibakteri yang dihasilkan. Sehingga pada kondisi tersebut zat aktif tidak dapat berdifusi ke dalam membran sel dan permeabilitas dari membran sel tidak terganggu [13]. Dalam kondisi ini mikroorganisme dapat mengatur proses keluar masuknya senyawa melalui membran sel. Mekanisme tersebut dapat melindungi sel dari efek zat antibakteri, dimana mikroorganisme dapat memompakan senyawa beracun menuju luar sel.

4. KESIMPULAN (CONCLUSION)

Peningkatan daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilakukan dengan menambahkan minyak nilam pada sabun cair. Penelitian ini menunjukkan bahwa sabun cair dengan penambahan minyak nilam memiliki diameter zona hambat lebih besar dibandingkan dengan sabun cair tanpa minyak nilam. Diameter zona hambat terbesar yaitu 0,915 cm dihasilkan oleh sabun cair dengan penambahan minyak nilam sebanyak 2%. Namun diameter zona hambat yang dihasilkan oleh semua sampel berada di bawah diameter zona hambat efektif yaitu 1 cm.

UCAPAN TERIMA KASIH (ACKNOWLEDGMENT)

Penulis mengucapkan terimakasih kepada teman-teman Laboratorium Teknik Bioproses Universitas Brawijaya dan kepada rekan-rekan yang membantu penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA (REFERENCE)

- [1] Aisyah, Y., Hastuti, P., Sastrohamidjojo, H., dan Hidayat, C. 2008. *Chemical Composition and Antibacterial Properties of The Essential Oil of Pogostemon cablin*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 19(3):151-156.
- [2] Baser, K. H. C and Buchbauer, G., 2010, *Handbook of Essential Oils Science Technology and Application*. Taylor & Francis Publisher. London.
- [3] Yang, Xian., Zhang, Xue., Yang, Shui-Ping. & Liu, Wei Qi. 2013. *Evaluation of the Antibacterial Activity of Patchouli Oil*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12 (3): 307-316.
- [4] Windi. 2014. *Daya Hambat Minyak Atsiri Mawar (Rosa damascena Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Makassar: Universitas Hasanuddin.

- [5] Febrianti, Dwi Rizki. 2013. *Formulasi Sediaan Sabun Mandi Cair Minyak Atsiri Jeruk Purut (Citrus hystrix DC.) Dengan Kokamidopropil Betain Sebagai Surfaktan*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [6] Syafruddin & Eka Kurniasih. 2013. *Aplikasi Minyak Nilam Sebagai Bahan Aditif Sabun Transparan Antiseptik*. Lhokseumawe: Politeknik Negeri Lhokseumawe.
- [7] Widyastuti dan Farizal, 2014, *Formulasi Gel Minyak Nilam Dan Uji Daya Hambatnya Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Scientia. Vol.4 No. 2.
- [8] Coyle, Marie B. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. Amerika: American Society for Microbiology.
- [9] Dalynn. 2014. *McFarland Standard*. Dalynn Biologicals. Catalogue No. TM50-TM60
- [10] Moore, Suzanne Louise. 1997. *The Mechanisms of Antibacterial Action of Some Nonionic Surfactants*. Brighton. University of Brighton
- [11] Vasanthakumari, R. 2007. *Textbook of Microbiology*. New Delhi. BI Publications Pvt Ltd
- [12] Luderz, Herarld dan Balzer, Dieter. 2000. *Nonionic Surfactants: Alkyl Polyglucosides*. New York. Marcel Dekker Inc
- [13] Thormar, Halldor. 2011. *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. New Delhi. John Wiley.
- [14] Siqueira, Jr., JF dan Lopes, HP, 1999, *Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review*. Rio de Janeiro. Department of Endodontics and Oral Microbiology