

Formulation and antibacterial activity test of nano-extract mouthwash from basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) on *Streptococcus mutans* and *Escherichia coli*

Formulasi dan uji aktivitas antibakteri mouthwash nanoekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*

Khairil Azhari Nasution ^a, Gabena Indriyani Dalimunthe ^{a*}, Minda Sari Lubis ^a,
Haris Munandar Nasution ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: GabenaIndriyani03@gmail.com

Abstract

Basil leaf extract is a promising botanical ingredient for antibacterial mouthwash development. This study formulated a mouthwash containing size-processed basil (*Ocimum basilicum* L.) leaf extract and evaluated its physicochemical characteristics and *in vitro* antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and *Escherichia coli*. Dried leaf powder was macerated with 96% ethanol; the concentrated extract was subsequently homogenized and ultrasonicated, yielding a mean particle size of 424.9 nm before formulation. Mouthwashes containing 5%, 10%, and 15% w/v extract were assessed for organoleptic characteristics, pH, four-week visual stability, and antibacterial activity by disc diffusion (n = 3 per group). Mean inhibition-zone diameters for the 5%, 10%, and 15% formulations were 9.27, 11.63, and 16.33 mm against *S. mutans* and 9.77, 12.07, and 17.03 mm against *E. coli*, respectively. The extract-free vehicle produced no inhibition zone, whereas the commercial mouthwash comparator produced larger zones than the test formulations. Omnibus analyses identified differences among groups, and post-hoc analyses were used to characterize pairwise patterns. The 15% formulation produced the largest mean inhibition zones among the extract-containing mouthwashes and maintained its organoleptic characteristics during four weeks of observation. These findings support further formulation development, while longer-term stability, antibiofilm activity, and oral-mucosal safety require additional investigation.

Keywords: *Ocimum basilicum*; mouthwash; submicron extract; *Streptococcus mutans*; *Escherichia coli*; disc diffusion.

Abstrak

Ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) berpotensi dikembangkan sebagai bahan aktif mouthwash antibakteri. Penelitian ini memformulasikan mouthwash yang mengandung ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan ukuran partikel serta mengevaluasi karakteristik fisik dan aktivitas antibakterinya secara *in vitro* terhadap *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. Serbuk daun dimaserasi menggunakan etanol 96%; ekstrak kental kemudian dihomogenisasi dan diultrasonikasi hingga diperoleh rerata ukuran partikel 424,9 nm sebelum formulasi. Mouthwash dengan konsentrasi ekstrak 5%, 10%, dan 15% b/v dievaluasi berdasarkan karakteristik organoleptik, pH, kestabilan visual selama empat minggu, serta aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram (n = 3 per kelompok). Rerata diameter zona hambat formula 5%, 10%, dan 15% masing-masing sebesar 9,27; 11,63; dan 16,33 mm terhadap *S. mutans* serta 9,77; 12,07; dan 17,03 mm terhadap *E. coli*. Basis tanpa ekstrak tidak menghasilkan zona hambat, sedangkan pembanding mouthwash komersial menghasilkan zona hambat yang lebih besar daripada seluruh formula uji. Uji statistik menunjukkan adanya perbedaan antarkelompok; analisis post hoc selanjutnya digunakan untuk mengidentifikasi pola perbedaan berpasangan. Formula 15% menghasilkan rerata zona hambat terbesar di antara formula yang mengandung ekstrak dan mempertahankan karakteristik organoleptiknya selama empat minggu. Hasil ini menunjukkan potensi formula untuk dikembangkan lebih lanjut, meskipun evaluasi kestabilan jangka panjang, aktivitas antibiofilm, dan keamanan terhadap mukosa rongga mulut masih diperlukan.

Kata kunci: *Ocimum basilicum*; mouthwash; ekstrak submikron; *Streptococcus mutans*; *Escherichia coli*; difusi cakram.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i3.1942>

Article History:

Received: 20/07/2026,
Revised: 22/09/2026
Accepted: 22/09/2026,
Available Online: 23/09/2026.

QR access this Article



Pendahuluan

Kesehatan rongga mulut berkaitan erat dengan pengendalian biofilm gigi. *Streptococcus mutans* berperan penting dalam proses karies karena sifat asidogenik dan asidurik, kemampuan mensintesis polisakarida ekstraseluler, serta kapasitasnya membentuk biofilm kariogenik. Identifikasi gen glukosiltransferase pada isolat dari lesi karies semakin memperkuat peran adhesi dan pembentukan biofilm yang dimediasi glukon dalam fenotipe kariogenik bakteri tersebut [1–3]. Dalam perspektif ekologi, karies berkembang melalui interaksi komunitas mikroba, substrat yang dapat difermentasi, dan kondisi asam yang persisten sehingga mendukung kehilangan mineral jaringan gigi [4]. Oleh karena itu, kandidat mouthwash antibakteri perlu dievaluasi tidak hanya berdasarkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi juga berdasarkan karakteristik formulasi yang relevan untuk penggunaan di rongga mulut.

Mouthwash merupakan sediaan cair yang digunakan sebagai pelengkap tindakan kebersihan rongga mulut secara mekanis. Formulasi mouthwash berbahan alam telah dikembangkan dari *Actinoscirpus grossus*, *Cymbopogon winterianus*, *Piper betle*, serta kombinasi *Morinda citrifolia* dan *Curcuma xanthorrhiza* [5–8]. Secara keseluruhan, penelitian tersebut menunjukkan bahwa kinerja antibakteri dan mutu formulasi merupakan aspek yang saling berkaitan; bahan aktif, komposisi basis, dan karakteristik fisik masing-masing dapat memengaruhi sifat sediaan akhir.

Kemangi (*Ocimum basilicum* L.; Lamiaceae) mengandung beragam metabolit sekunder dan komponen volatil yang dikaitkan dengan aktivitas antimikroba. Profil fitokimia ekstrak kemangi dapat bervariasi menurut sumber bahan tumbuhan, jenis pelarut, dan kondisi ekstraksi, sehingga rancangan proses ekstraksi merupakan faktor penting yang menentukan komposisi kimia ekstrak yang dihasilkan [9]. Tinjauan terbaru juga merangkum bukti aktivitas antimikroba *O. basilicum* dan ekstraknya yang memiliki komposisi kimia heterogen [34,36]. Sediaan lain dari genus *Ocimum* telah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* [10,11], sehingga mendukung evaluasi lebih lanjut genus ini sebagai sumber bahan antibakteri untuk sediaan farmasi.

Pada *O. basilicum* secara khusus, Oktaviani et al. memformulasikan ekstrak etanol daun sebagai mouthwash dan melaporkan peningkatan diameter zona hambat terhadap *S. mutans* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak [12]. Yosephine et al. mengembangkan mouthwash minyak atsiri *O. basilicum* yang menunjukkan aktivitas antibakteri serta kemampuan menghambat pembentukan dan mendegradasi biofilm *S. mutans* [13]. Kedua penelitian tersebut menunjukkan kelayakan pengembangan sediaan oral berbasis kemangi, meskipun menggunakan bentuk bahan aktif dan strategi formulasi yang berbeda.

Pemrosesan ukuran partikel merupakan salah satu pendekatan untuk memodifikasi karakteristik dispersi sediaan berbahan alam. Pendekatan serupa telah diterapkan pada nanomouthwash kunyit, formulasi topikal yang mengandung nanopartikel, dan sistem partikulat berbahan tumbuhan yang diuji terhadap *E. coli* [14–16]. Ahmad et al. melaporkan nanoemulsi *O. basilicum* berbasis mikrofluidik yang dikarakterisasi berdasarkan distribusi ukuran, muatan permukaan, stabilitas penyimpanan, dan profil pelepasan [17]. Pada penelitian ini, homogenisasi yang dilanjutkan dengan ultrasonikasi menghasilkan rerata diameter partikel 424,9 nm. Hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa ekstrak yang digunakan berada pada rentang ukuran submikron.

Meskipun formulasi mouthwash *O. basilicum* dan berbagai sistem partikulat berbahan tumbuhan telah dilaporkan, informasi mengenai ekstrak daun kemangi yang diproses secara berurutan melalui homogenisasi dan ultrasonikasi, kemudian diformulasikan pada beberapa konsentrasi dan diuji secara paralel terhadap bakteri Gram-positif kariogenik (*S. mutans*) dan bakteri Gram-negatif (*E. coli*), masih terbatas. Penelitian ini mengevaluasi karakteristik formulasi serta pola aktivitas antibakteri yang berkaitan dengan konsentrasi

ekstrak hasil pemrosesan ukuran. Karena ekstrak tanpa pemrosesan tidak digunakan sebagai pembanding, pengaruh spesifik reduksi ukuran partikel terhadap aktivitas antibakteri tidak dievaluasi secara langsung. Hal ini relevan karena sistem partikulat tidak selalu menghasilkan peningkatan aktivitas biologis; pada penelitian lain, mouthrinse yang mengandung nanopartikel hidroksiapatit tidak menunjukkan penurunan pembentukan biofilm *in situ* selama 48 jam [37]. Berdasarkan kesenjangan tersebut, penelitian ini bertujuan memformulasikan mouthwash ekstrak daun kemangi pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15% b/v, mengevaluasi karakteristik fisiknya, serta membandingkan aktivitas antibakteri secara *in vitro* terhadap *S. mutans* dan *E. coli*.

Bahan dan Metode

Rancangan penelitian dan bahan tumbuhan

Penelitian eksperimental laboratorium dilaksanakan pada tahun 2024 di Laboratorium Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah, Medan, Indonesia. Daun kemangi segar dikumpulkan secara purposif dari Bandar Klippa, Kecamatan Percut Sei Tuan, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara. Identifikasi botani dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara, dan mengonfirmasi bahan tumbuhan sebagai *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), berdasarkan surat identifikasi nomor 1922/MEDA/2024.

Daun disortasi basah, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, dan dikeringkan dalam lemari pengering. Setelah sortasi kering, bahan dihaluskan selama 5–10 menit, diayak menggunakan ayakan nomor 100, dan disimpan terlindung dari cahaya. Penyiapan simplisia mengikuti pedoman Indonesia untuk bahan baku tumbuhan obat [20]. Karakterisasi meliputi pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik, penetapan kadar air dengan distilasi azeotropik, kadar sari larut air dan etanol, kadar abu total, serta kadar abu tidak larut asam [21].

Ekstraksi, skrining fitokimia, dan pemrosesan ukuran ekstrak

Serbuk simplisia sebanyak 500 g dimaserasi dengan 3.750 mL etanol 96% selama lima hari dalam wadah tertutup dan terlindung dari cahaya dengan pengadukan berkala. Ampas diperas dan dibilas dengan tambahan 1.250 mL etanol 96%. Seluruh maserat digabungkan, didiamkan selama dua hari, kemudian disaring. Filtrat dipekatkan menggunakan rotary evaporator (IKA), kemudian dilanjutkan dengan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental [22]. Rendemen ekstraksi dihitung berdasarkan perbandingan massa ekstrak kental terhadap massa awal serbuk kering. Skrining fitokimia secara kualitatif dilakukan terhadap alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, dan steroid/triterpenoid [23,24]. Alkaloid diuji menggunakan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff; flavonoid menggunakan serbuk magnesium, asam klorida, dan amil alkohol; sedangkan tanin menggunakan besi(III) klorida 10%. Saponin dinilai berdasarkan pembentukan busa yang persisten setelah pengocokan selama 10 detik, sementara steroid/triterpenoid diperiksa menggunakan kloroform, asam asetat glasial, dan asam sulfat pekat.

Ekstrak kental dihomogenisasi pada kecepatan 1.500 rpm selama 1 jam, kemudian dilanjutkan dengan ultrasonikasi selama 1 jam. Distribusi ukuran partikel diukur menggunakan particle size analyzer FRITSCH ANALYSETTE 22 NanoTec/MicroTec Plus dengan model Mie. Hasil pengukuran dikonversi dari mikrometer ke nanometer untuk pelaporan. Ekstrak yang telah melalui pemrosesan ukuran selanjutnya digunakan sebagai bahan aktif dalam formulasi mouthwash.

Formulasi mouthwash

Empat formula disiapkan, yaitu basis tanpa ekstrak (F0) dan tiga formula yang mengandung ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan ukuran pada konsentrasi 5% (F1), 10% (F2), dan 15% b/v (F3), masing-masing dengan volume akhir 100 mL. Formula dasar diadaptasi dari formula mouthwash *O. basilicum* yang telah dilaporkan sebelumnya [12]. Gliserin digunakan sebagai humektan, sorbitol sebagai pemanis, Tween 80 sebagai surfaktan sekaligus bahan pensolubilisasi, dan minyak peppermint sebagai pemberi aroma [25,26]. Komposisi setiap formula disajikan pada Tabel 1.

Ekstrak hasil pemrosesan ukuran dicampurkan dengan gliserin dan Tween 80 hingga homogen, kemudian ditambahkan sorbitol. Akuades ditambahkan secara bertahap sambil terus diaduk, diikuti penambahan minyak peppermint, kemudian volume akhir dicukupkan hingga 100 mL. Sediaan disaring dan dikemas dalam botol semprot. Etanol tidak ditambahkan pada tahap formulasi akhir.

Tabel 1. Komposisi formula mouthwash ekstrak daun kemangi (volume akhir 100 mL).

Bahan	F0	F1	F2	F3
Ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan ukuran (g)	0	5	10	15
Gliserin (g)	5	5	5	5
Sorbitol (g)	20	20	20	20
Tween 80 (g)	5	5	5	5
Minyak peppermint (g)	0,2	0,2	0,2	0,2
Akuades	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL

F0: basis tanpa ekstrak; F1-F3: ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan ukuran masing-masing 5%, 10%, dan 15% b/v.

Evaluasi fisik sediaan

Evaluasi organoleptik meliputi bentuk fisik, warna, dan bau sediaan [27]. Nilai pH diukur menggunakan indikator pH universal. Sediaan disimpan pada suhu sekitar 23 °C dan diamati setiap minggu selama empat minggu. Kestabilan organoleptik dinilai berdasarkan ada atau tidaknya perubahan visual pada bentuk, warna, dan bau selama periode pengamatan.

Uji aktivitas antibakteri dan analisis statistik

S. mutans dan *E. coli* diremajakan pada nutrient agar pada suhu 37 °C selama 18–24 jam. Kekeruhan suspensi bakteri disesuaikan secara visual dengan standar McFarland yang digunakan dalam penelitian (sekitar 10⁸ CFU/mL), kemudian 0,1 mL suspensi diencerkan dengan 9,9 mL larutan NaCl hingga diperoleh kepadatan sekitar 10⁶ CFU/mL. Aktivitas antibakteri dievaluasi menggunakan metode difusi cakram pada Mueller–Hinton agar. Inokulum yang telah distandarisasi diratakan pada permukaan agar menggunakan swab steril dan dibiarkan terserap selama 5–15 menit. Cakram direndam dalam masing-masing sediaan uji selama 10 menit, ditiriskan selama 5 menit, ditempatkan pada agar yang telah diinokulasi, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong [11,28].

Pada pengujian ekstrak hasil pemrosesan ukuran, DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Pada pengujian mouthwash, F0 digunakan sebagai kontrol basis dan Listerine sebagai pembanding komersial. Setiap kelompok terdiri atas tiga pengukuran yang disajikan sebagai rerata ± simpangan baku (SD). Analisis statistik dilakukan menggunakan SPSS. Data ekstrak hasil pemrosesan terhadap kedua bakteri dan data mouthwash terhadap *S. mutans* dianalisis menggunakan ANOVA satu arah; hasil yang bermakna dilanjutkan dengan uji Tukey HSD. Data mouthwash terhadap *E. coli* dianalisis menggunakan uji Kruskal–Wallis yang dilanjutkan dengan uji Dunn dan koreksi Holm. Taraf signifikansi dua sisi ditetapkan pada $p < 0,05$. Notasi huruf pada Tabel 3 menunjukkan hasil perbandingan antarkelompok dalam setiap jenis pengujian dan bakteri.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik bahan tumbuhan dan profil fitokimia

Daun kemangi yang digunakan berbentuk bulat telur, berwarna hijau, beraroma khas, dan berukuran sekitar 6 × 3 cm. Pemeriksaan mikroskopik menunjukkan elemen pembuluh dengan penebalan spiral dan tangga serta rambut sisik berkepala empat sel. Ekstraksi 500 g serbuk simplisia menghasilkan 247,5 g ekstrak kental dengan rendemen 49,5%. Karakteristik bahan tumbuhan dan hasil pengamatan formulasi dirangkum pada Tabel 2. Parameter tersebut menggambarkan mutu bahan awal dan hasil proses maserasi menggunakan etanol 96%; komposisi pelarut dan kondisi ekstraksi diketahui dapat memengaruhi profil kimia ekstrak kemangi [9,21,34].

Skринing fitokimia menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid serta negatif terhadap glikosida. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak memiliki komposisi kimia yang heterogen sehingga aktivitasnya tidak dapat diatribusikan hanya kepada satu golongan senyawa. Secara mekanistik, fitokonstituen dapat menghambat bakteri melalui beberapa jalur yang sering kali saling tumpang tindih, termasuk gangguan terhadap struktur dan permeabilitas membran, interaksi dengan target pada selubung sel maupun target intraseluler, pengikatan protein dan enzim, serta gangguan pada proses energi atau redoks [35]. Fraksi yang kaya flavonoid dapat memengaruhi fungsi membran dan enzim bakteri, tanin dapat membentuk kompleks dengan protein serta makromolekul lain, sedangkan saponin yang

bersifat aktif permukaan dapat meningkatkan permeabilitas membran. Namun, skrining kualitatif pada penelitian ini tidak dapat menentukan konstituen mana yang terutama bertanggung jawab terhadap aktivitas penghambatan yang diamati. Oleh sebab itu, temuan antibakteri perlu ditafsirkan sebagai respons terpadu dari keseluruhan ekstrak [34,35].

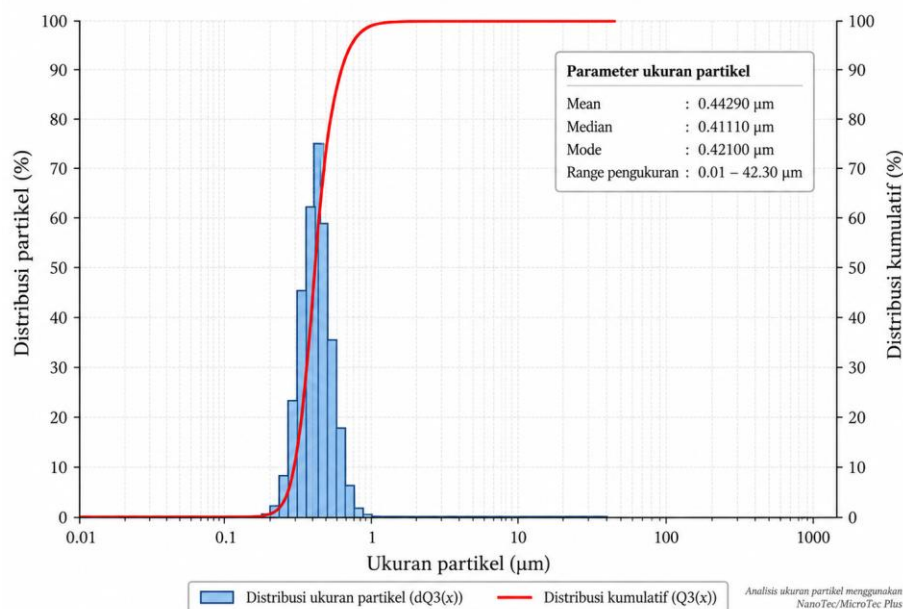
Tabel 2. Karakteristik bahan tumbuhan dan hasil evaluasi fisik sediaan.

Parameter	Hasil
Rendemen ekstrak kental	49,5%
Kadar air simplisia	5,33%
Kadar sari larut etanol	52,5%
Kadar sari larut air	33,66%
Kadar abu total	6,35%
Kadar abu tidak larut asam	1,3%
Rerata ukuran partikel ekstrak hasil pemrosesan	424,9 nm
pH F0; F1; F2; F3	≈7; ≈6; ≈6; ≈6
Bentuk dan aroma F0–F3	Cair; mint
Warna F0; F1–F3	Bening; hijau kehitaman
Bentuk, warna, dan bau selama 4 minggu	Tidak ada perubahan visual

Karakteristik ukuran partikel dan sifat sediaan

Analisis ukuran partikel setelah homogenisasi dan ultrasonikasi menghasilkan rerata diameter 424,9 nm (0,42490 μm), median 411,1 nm, dan modus 421,0 nm. Dengan demikian, bahan yang diukur lebih tepat dikarakterisasi sebagai berukuran submikron. Distribusi ukuran lengkap dan profil kumulatif ditampilkan pada Gambar 1. Karena pengukuran ukuran partikel dilakukan sebelum ekstrak dimasukkan ke dalam basis mouthwash, nilai tersebut menggambarkan karakteristik ekstrak hasil pemrosesan ukuran dan bukan ukuran partikel pada formulasi akhir.

Karakterisasi Ukuran Partikel Nanoekstrak Daun Kemangi



Gambar 1. Karakterisasi ukuran partikel ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan. Histogram menunjukkan distribusi ukuran partikel (dQ3(x)), sedangkan garis menunjukkan distribusi kumulatif (Q3(x)).

Ahmad et al. melaporkan bahwa nanoemulsi *O. basilicum* berbasis mikrofluidik memiliki potensial zeta negatif, stabilitas penyimpanan hingga enam bulan, dan profil pelepasan yang lebih berkelanjutan dibandingkan ekstrak bebas [17]. Temuan tersebut menunjukkan bahwa proses pembentukan sistem dispersi dapat memengaruhi karakteristik fisik dan pelepasan bahan aktif. Pada penelitian ini, homogenisasi dan ultrasonikasi digunakan untuk menghasilkan ekstrak berukuran submikron, sedangkan konsentrasi ekstrak menjadi variabel utama pada pengujian antibakteri. Karena ekstrak tanpa pemrosesan tidak diuji sebagai

pembandingan, pengaruh reduksi ukuran partikel terhadap besarnya aktivitas antibakteri belum dapat ditentukan secara terpisah dari pengaruh konsentrasi dan karakteristik ekstrak.

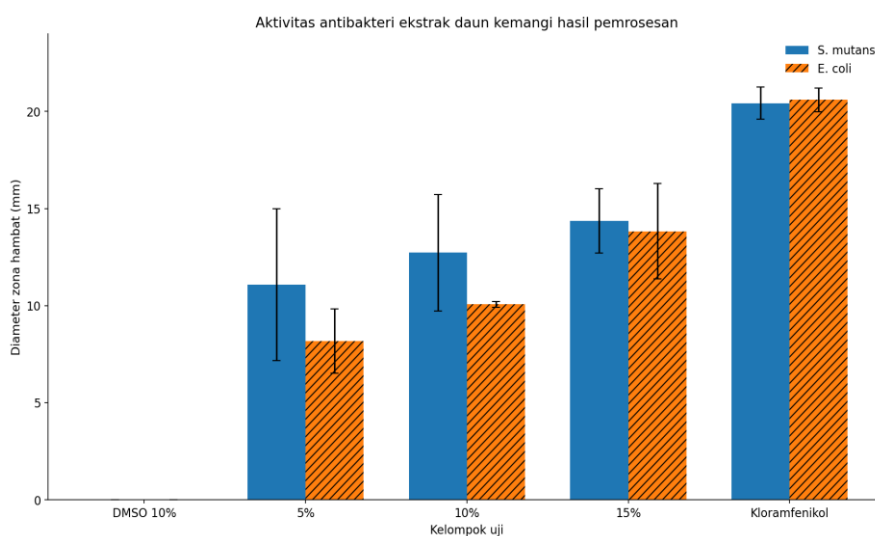
F0 berbentuk cairan bening, sedangkan F1–F3 berupa cairan berwarna hijau kehitaman; seluruh formula memiliki aroma mint. Tidak ditemukan perubahan visual pada bentuk, warna, maupun bau selama penyimpanan empat minggu pada suhu sekitar 23 °C, yang menunjukkan konsistensi organoleptik selama periode pengamatan. Namun, parameter tersebut hanya menggambarkan kestabilan fisik secara visual dan belum mencakup evaluasi stabilitas farmasetika jangka panjang. Konsentrasi Tween 80 dan gliserin dipertahankan sama pada F0–F3, sedangkan konsentrasi ekstrak divariasikan, sehingga pola aktivitas antibakteri yang berkaitan dengan konsentrasi dapat dibandingkan pada komposisi basis yang sama [13,25,26].

Aktivitas antibakteri ekstrak hasil pemrosesan dan sediaan mouthwash

Ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji pada seluruh konsentrasi yang dievaluasi. Pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15%, rerata diameter zona hambat terhadap *S. mutans* masing-masing sebesar 11,07; 12,73; dan 14,37 mm, sedangkan terhadap *E. coli* masing-masing sebesar 8,17; 10,07; dan 13,83 mm (Tabel 3; Gambar 2). Rerata zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi pada kedua bakteri. Variabilitas lebih tinggi ditemukan pada ekstrak 5% dan 10% terhadap *S. mutans*, dengan simpangan baku masing-masing 3,91 dan 3,00 mm. Variasi tersebut dapat berkaitan dengan heterogenitas dispersi ekstrak, jumlah bahan yang teradsorpsi pada cakram, serta perbedaan difusi komponen aktif dalam agar. Karena setiap kelompok hanya terdiri atas tiga pengukuran, besarnya variasi tersebut perlu dipertimbangkan dalam interpretasi rerata dan hasil post hoc. DMSO 10% tidak menghasilkan zona hambat, sedangkan kloramfenikol menghasilkan rerata zona hambat 20,43 mm terhadap *S. mutans* dan 20,60 mm terhadap *E. coli*.

Tabel 3. Diameter zona hambat ekstrak hasil pemrosesan dan sediaan mouthwash terhadap bakteri uji.

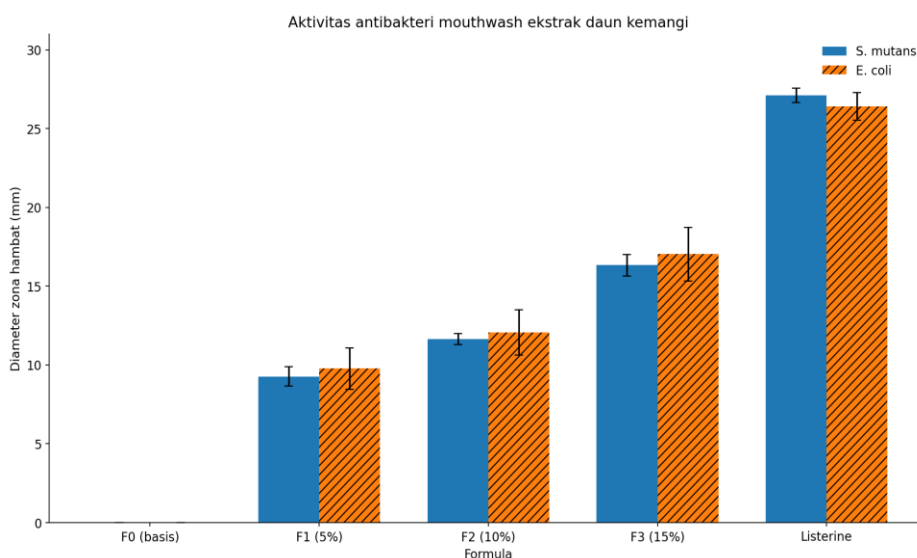
Bahan uji	Kelompok	<i>S. mutans</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
Ekstrak hasil pemrosesan	10% DMSO	0,00 ± 0,00 ^c	0,00 ± 0,00 ^d
Ekstrak hasil pemrosesan	5%	11,07 ± 3,91 ^b	8,17 ± 1,65 ^c
Ekstrak hasil pemrosesan	10%	12,73 ± 3,00 ^b	10,07 ± 0,15 ^c
Ekstrak hasil pemrosesan	15%	14,37 ± 1,66 ^{ab}	13,83 ± 2,45 ^b
Ekstrak hasil pemrosesan	Kloramfenikol	20,43 ± 0,83 ^a	20,60 ± 0,61 ^a
Mouthwash	F0 (basis)	0,00 ± 0,00 ^e	0,00 ± 0,00 ^b
Mouthwash	F1 (5%)	9,27 ± 0,61 ^d	9,77 ± 1,31 ^{ab}
Mouthwash	F2 (10%)	11,63 ± 0,35 ^c	12,07 ± 1,44 ^{ab}
Mouthwash	F3 (15%)	16,33 ± 0,68 ^b	17,03 ± 1,71 ^{ab}
Mouthwash	Listerine	27,10 ± 0,46 ^a	26,40 ± 0,87 ^a



Gambar 2. Aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan terhadap *S. mutans* dan *E. coli*. Batang menunjukkan rerata diameter zona hambat dan garis galat menunjukkan simpangan baku sampel (n = 3). Kloramfenikol dan DMSO 10% masing-masing digunakan sebagai kontrol positif dan kontrol negatif.

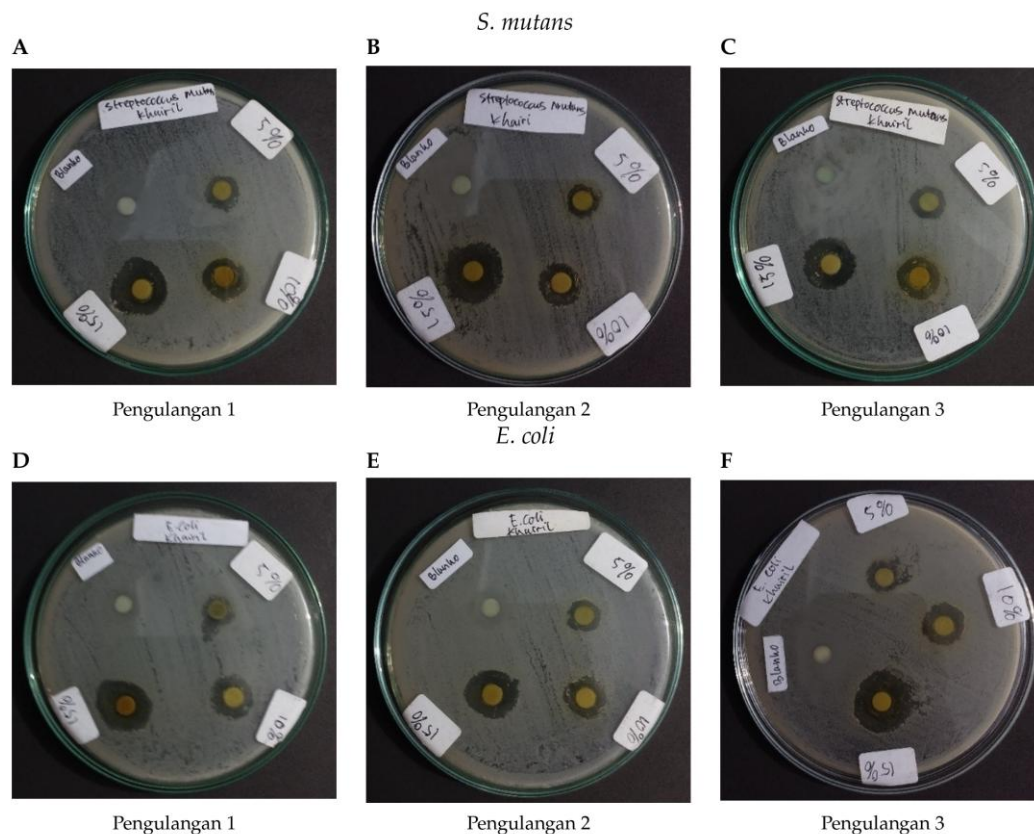
Data disajikan sebagai rerata $\pm$ simpangan baku ($n = 3$). Pada setiap kombinasi jenis pengujian dan bakteri, nilai yang memiliki sedikitnya satu huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada $\alpha = 0,05$. Perbandingan ekstrak hasil pemrosesan dan mouthwash terhadap *S. mutans* menggunakan uji Tukey HSD setelah ANOVA satu arah yang menunjukkan hasil signifikan, sedangkan perbandingan mouthwash terhadap *E. coli* menggunakan uji Dunn dengan koreksi Holm setelah uji Kruskal–Wallis. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian ekstrak hasil pemrosesan, sedangkan Listerine digunakan sebagai pembanding komersial pada pengujian mouthwash. Nilai 0 menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat yang dapat diukur.

Aktivitas antibakteri tetap teramati setelah ekstrak diformulasikan ke dalam basis mouthwash. Rerata diameter zona hambat F1, F2, dan F3 terhadap *S. mutans* masing-masing sebesar 9,27; 11,63; dan 16,33 mm, sedangkan terhadap *E. coli* masing-masing sebesar 9,77; 12,07; dan 17,03 mm. F3 menghasilkan rerata zona hambat terbesar pada kedua bakteri di antara formula yang mengandung ekstrak (Gambar 3). F0 tidak menghasilkan zona hambat yang dapat diukur, menunjukkan bahwa basis sediaan tidak memberikan aktivitas penghambatan pada kondisi uji. Listerine menghasilkan rerata zona hambat 27,10 mm terhadap *S. mutans* dan 26,40 mm terhadap *E. coli* dan digunakan sebagai pembanding komersial. Perbedaan komposisi bahan aktif dan basis antara Listerine dan formula uji membatasi interpretasi perbandingan langsung; oleh karena itu, nilai pembanding terutama digunakan sebagai acuan aktivitas dalam sistem difusi cakram. Dokumentasi tiga pengulangan pengujian mouthwash ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 3. Aktivitas antibakteri mouthwash ekstrak daun kemangi terhadap *S. mutans* dan *E. coli*. Batang menunjukkan rerata diameter zona hambat dan garis galat menunjukkan simpangan baku sampel ($n = 3$). F1–F3 masing-masing mengandung ekstrak 5%, 10%, dan 15% b/v; F0 merupakan basis tanpa ekstrak, sedangkan Listerine digunakan sebagai pembanding komersial.

ANOVA satu arah menunjukkan adanya perbedaan antarkelompok pada pengujian ekstrak hasil pemrosesan terhadap *S. mutans* ($F(4,10) = 29,98$; $p < 0,001$) dan *E. coli* ($F(4,10) = 94,16$; $p < 0,001$), serta pada pengujian mouthwash terhadap *S. mutans* ($F(4,10) = 1.264,86$; $p < 0,001$). Uji Tukey HSD menunjukkan bahwa ekstrak 5% dan 10% tidak berbeda bermakna satu sama lain maupun dengan konsentrasi 15% terhadap *S. mutans*; konsentrasi 15% juga tidak berbeda bermakna dengan kloramfenikol. Hasil ini perlu dibaca bersama dengan simpangan baku yang relatif besar pada konsentrasi 5% dan 10%, yang memperlebar variasi dalam kelompok. Terhadap *E. coli*, ekstrak 15% berbeda bermakna dari konsentrasi 5% dan 10%, sedangkan konsentrasi 5% dan 10% tidak berbeda bermakna. Pada pengujian mouthwash terhadap *S. mutans*, seluruh perbandingan berpasangan menunjukkan perbedaan bermakna. Uji Kruskal–Wallis untuk aktivitas mouthwash terhadap *E. coli* menunjukkan perbedaan keseluruhan yang signifikan ($H(4) = 13,50$; $p = 0,009$); setelah koreksi Dunn–Holm, hanya perbandingan F0 dengan Listerine yang tetap bermakna. Meskipun rerata zona hambat menunjukkan pola $F3 > F2 > F1$, ukuran sampel yang kecil ($n = 3$ per kelompok) membatasi daya uji pada analisis berpasangan.



Gambar 4. Uji difusi cakram mouthwash ekstrak daun kemangi terhadap *S. mutans* (A–C) dan *E. coli* (D–F). Panel A/D, B/E, dan C/F masing-masing menunjukkan pengulangan pertama, kedua, dan ketiga. Diameter zona hambat yang sesuai disajikan pada Tabel 3.

Perbandingan aktivitas antibakteri dan implikasi formulasi

Peningkatan rerata zona hambat terhadap *S. mutans* seiring dengan kenaikan konsentrasi sesuai dengan pola yang dilaporkan Oktaviani et al. pada mouthwash ekstrak etanol *O. basilicum*; formula 13%, 15%, dan 17% pada penelitian tersebut menghasilkan zona hambat masing-masing sebesar 4,00; 4,80; dan 9,15 mm [12]. Pada penelitian ini, formula 15% menghasilkan rerata zona hambat 16,33 mm terhadap bakteri yang sama. Perbedaan kuantitatif tersebut tidak dapat dikaitkan secara langsung dengan pemrosesan ukuran partikel karena terdapat perbedaan metode ekstraksi, komposisi basis, dan kondisi pengujian, serta tidak tersedia pembandingan internal berupa ekstrak tanpa pemrosesan. Dengan demikian, hasil penelitian ini terutama menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi berukuran submikron dapat diformulasikan dalam mouthwash dan mempertahankan pola peningkatan aktivitas antibakteri seiring dengan peningkatan konsentrasi.

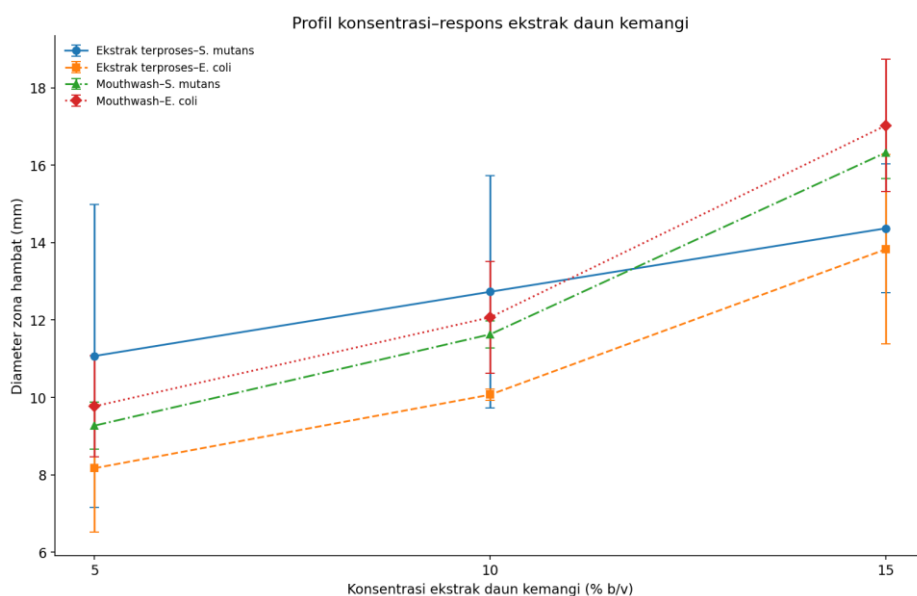
Mouthwash herbal lain juga telah menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *S. mutans*. Rahmah et al. melaporkan zona hambat sebesar 18,12 mm pada formula ketiga yang mengandung kombinasi infusa *Morinda citrifolia* dan *Cymbopogon citratus*, disertai evaluasi organoleptik, pH, viskositas, dan stabilitas [29]. Perbandingan angka secara langsung antarpemeriksaan berbahan alam tetap harus mempertimbangkan perbedaan metode ekstraksi, jumlah bahan aktif, komposisi basis, inokulum, penyiapan cakram, dan karakteristik difusi. Dalam penelitian ini, komposisi basis dikendalikan tetap sama pada F0–F3 sehingga memperkuat perbandingan internal antarseri konsentrasi.

Respons relatif kedua bakteri berubah setelah formulasi. Pada ekstrak hasil pemrosesan, rerata zona hambat terhadap *S. mutans* lebih besar daripada terhadap *E. coli* pada setiap konsentrasi, sedangkan setelah diformulasikan menjadi mouthwash, rerata zona hambat terhadap *E. coli* sedikit lebih besar. Perubahan pola tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh perubahan kelarutan, dispersi, dan difusi komponen antibakteri setelah berinteraksi dengan Tween 80, gliserin, sorbitol, dan minyak peppermint, serta oleh perbedaan struktur selubung sel kedua bakteri. Mekanisme ini belum dapat dikonfirmasi karena penelitian tidak mengukur potensial zeta, kelarutan, kinetika pelepasan, kerusakan membran, maupun interaksi ekscipien–ekstrak. Oleh karena itu, hasil yang diperoleh menunjukkan perubahan pola zona difusi setelah formulasi, tetapi belum dapat menjelaskan mekanisme molekuler yang mendasarinya [17,25,26,35].

Diameter zona hambat pada metode difusi cakram mencerminkan aktivitas antibakteri sekaligus kemampuan konstituen aktif untuk bermigrasi dari cakram melalui medium agar [28]. Oleh karena itu, ukuran zona hambat tidak dapat dianggap sebagai ukuran potensi antibakteri yang terlepas dari pengaruh difusi fisikokimia. Pertimbangan ini terutama penting ketika membandingkan ekstrak tumbuhan, mouthwash hasil formulasi, kloramfenikol, dan mouthwash komersial yang memiliki matriks berbeda. Kontrol negatif pada masing-masing tahap—DMSO 10% untuk ekstrak hasil pemrosesan dan F0 untuk mouthwash—membantu membedakan aktivitas yang berkaitan dengan bahan uji dari aktivitas pembawanya, sedangkan kontrol positif menunjukkan bahwa sistem pengujian memberikan respons yang diharapkan. Oleh karena itu, mouthwash komersial harus ditafsirkan sebagai pembanding acuan dan bukan sebagai kontrol positif dengan basis yang setara.

Aktivitas terhadap *S. mutans* planktonik dapat dibandingkan dengan temuan antibiofilm kemangi yang telah dilaporkan sebelumnya. Yosephine et al. melaporkan bahwa mouthwash minyak atsiri *O. basilicum* 0,1% v/v menghambat pembentukan biofilm *S. mutans* sebesar $77,52 \pm 0,82\%$, sedangkan konsentrasi 0,2% v/v menghasilkan degradasi biofilm sebesar $57,64 \pm 6,09\%$ [13]. Pan et al. juga menunjukkan bahwa kinerja mouthrinse antimikroba pada model biofilm yang berasal dari saliva dipengaruhi oleh formulasi dan lama paparan [33]. Penelitian tersebut mengevaluasi biofilm secara langsung, sedangkan uji difusi cakram pada penelitian ini mengukur penghambatan pertumbuhan bakteri pada medium agar. Perbedaan ini penting karena diameter zona hambat tidak dapat digunakan untuk menyimpulkan efektivitas antibiofilm. Sejalan dengan hal tersebut, penelitian *in situ* menunjukkan bahwa mouthrinse yang mengandung nanopartikel hidroksiapatit tidak menghambat pembentukan biofilm gigi selama 48 jam [37].

Model yang lebih mendekati biofilm pada permukaan gigi digunakan oleh Ahmed et al., yang mengevaluasi kombinasi vanilin dengan minyak mawar atau melati pada biofilm satu spesies maupun multispecies secara *in vitro* serta pada gigi alami secara *ex vivo* [31]. Temuan tersebut menegaskan pentingnya interaksi antar senyawa aktif, arsitektur biofilm, dan karakteristik permukaan tempat mikroorganisme melekat. Model semacam ini melengkapi uji difusi dan menunjukkan bahwa pengembangan mouthwash kemangi selanjutnya perlu memasukkan parameter biofilm kuantitatif, bukan hanya mengandalkan penghambatan bakteri planktonik pada medium agar.



Gambar 5. Profil konsentrasi-respons ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan dan formula mouthwash yang sesuai terhadap *S. mutans* dan *E. coli*. Titik menunjukkan rerata diameter zona hambat dan garis galat menunjukkan simpangan baku sampel ($n = 3$). Gambar bersifat deskriptif dan tidak menunjukkan kesetaraan antara matriks ekstrak dan matriks sediaan hasil formulasi.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pengamatan selama empat minggu hanya menilai kestabilan organoleptik secara visual dan belum mencakup uji stabilitas dipercepat maupun jangka panjang, pengukuran kuantitatif viskositas atau kadar senyawa aktif, serta karakterisasi ukuran partikel setelah ekstrak dimasukkan ke dalam sediaan mouthwash akhir. Sitotoksitas terhadap sel mukosa oral, potensi iritasi, dan tolerabilitas belum dievaluasi, serta belum dilakukan pengujian antibiofilm kuantitatif pada model satu

spesies maupun multispecies. Tidak adanya ekstrak tanpa pemrosesan sebagai pembanding menyebabkan pengaruh spesifik reduksi ukuran partikel terhadap aktivitas antibakteri tidak dapat ditentukan, sedangkan pembanding komersial memiliki komposisi basis yang berbeda dari formula uji. Selain itu, jumlah pengukuran yang terbatas ($n = 3$ per kelompok) mengurangi presisi estimasi dan daya uji post hoc, terutama pada analisis nonparametrik mouthwash terhadap *E. coli*. Penelitian selanjutnya perlu mencakup evaluasi stabilitas formulasi, standardisasi kimia, karakterisasi ukuran partikel pada produk akhir, pengujian antibiofilm, penilaian keamanan pada sel rongga mulut, serta pengujian praklinis dan klinis yang sesuai.

Kesimpulan

Ekstrak daun kemangi hasil pemrosesan ukuran dengan rerata diameter partikel sebelum formulasi sebesar 424,9 nm berhasil diformulasikan menjadi mouthwash yang mengandung ekstrak 5%, 10%, dan 15% b/v. Seluruh formula yang mengandung ekstrak menunjukkan aktivitas antibakteri secara *in vitro* terhadap *S. mutans* dan *E. coli* serta mempertahankan bentuk, warna, dan bau secara visual selama empat minggu pengamatan. Formula 15% menunjukkan aktivitas penghambatan tertinggi di antara formula uji, dengan rerata diameter zona hambat 16,33 mm terhadap *S. mutans* dan 17,03 mm terhadap *E. coli*, sedangkan pembanding komersial menghasilkan zona hambat yang lebih besar. Karena tidak tersedia ekstrak tanpa pemrosesan sebagai pembanding, peningkatan aktivitas tidak dapat dikaitkan secara spesifik dengan reduksi ukuran partikel. Evaluasi stabilitas jangka panjang dan dipercepat, aktivitas antibiofilm, keamanan terhadap mukosa oral, serta pengujian praklinis dan klinis lebih lanjut diperlukan untuk mendukung pengembangan produk.

Pernyataan Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan yang berkaitan dengan publikasi ini. Penelitian tidak menerima pendanaan eksternal dari institusi mana pun, dan tidak terdapat hubungan finansial maupun personal yang dilaporkan dapat memengaruhi pelaksanaan atau interpretasi penelitian.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Laboratorium Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah atas dukungan dalam pelaksanaan penelitian serta Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, atas identifikasi botani bahan tumbuhan.

Referensi

- [1] Hidayat R, Astrid T. Kesehatan gigi dan mulut: apa yang sebaiknya Anda tahu? Yogyakarta: Andi; 2016.
- [2] Putri MH. Mikrobiologi keperawatan gigi. Nasya Expanding Management; 2021.
- [3] Endriani R, Siregar FM, Rafni E, Kemal RA, Jefrizal. Identifikasi gen kariogenik glukosiltransferase *Streptococcus mutans* pada pasien karies gigi. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran 2021;33:14–8.
- [4] Nascimento MM. Approaches to modulate biofilm ecology. Dent Clin North Am 2019;63:581–94. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2019.07.002>.
- [5] Noval, Melviani, Novia, Syahrina D. Formulasi dan evaluasi sediaan obat kumur (mouthwash) dari ekstrak etanol tanaman bundung (*Actinoscirpus grossus*) sebagai antiseptik mulut. Jurnal Surya Medika 2020;6:112–20. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1626>.
- [6] Sapitri A, Mayasari U. Formulasi sediaan obat kumur dari infusa daun sereh wangi (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor). Jurnal Health Sains 2021;2:286–93. <https://doi.org/10.46799/jhs.v2i3.132>.
- [7] Harun N, Febrianti S E. Uji efektivitas antiseptik obat kumur ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri isolat mulut. Jurnal Sains Dan Kesehatan 2022;4:268–74. <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i3.1036>.
- [8] Utami N, Musyayaf AF, Fadhillah Z, Indrayudha P. Mouthwash spray kombinasi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) untuk mengatasi halitosis. Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian 2023;8:925–34. <https://doi.org/10.37874/ms.v8i3.783>.

- [9] Guntur A, Selenia M, Bella A, Leonarda G, Leda A, Setyaningsih D, et al. Kemangi (*Ocimum basilicum* L.): kandungan kimia, teknik ekstraksi, dan uji aktivitas antibakteri. Journal of Food and Pharmaceutical Sciences 2021;9:513–28. <https://doi.org/10.22146/jfps.3376>.
- [10] Ballo NDS, Indriarini D, Amat ALSS. Uji aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Cendana Medical Journal 2021;9:83–93. <https://doi.org/10.35508/cmj.v9i1.4940>.
- [11] Djohan H, Ratnawati GJ, Sugito, D.M.T I. Uji aktivitas anti bakteri sediaan spray daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*. Jurnal Laboratorium Khatulistiwa 2023;7:49–57. <https://doi.org/10.30602/jlk.v7i1.1207>.
- [12] Oktaviani AF, Rahmatullah S, Pambudi DB. Formulasi sediaan obat kumur ekstrak etanol daun selasih (*Ocimum basilicum* L.) sebagai uji aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans*. Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal of Pharmacy UMUS 2021;3:1–9. <https://doi.org/10.46772/jophus.v3i01.518>.
- [13] Yosephine AD, Wulanjati MP, Saifullah TN, Astuti P. Mouthwash formulation of basil oil (*Ocimum basilicum* L.) and in vitro antibacterial and antibiofilm activities against *Streptococcus mutans*. Majalah Obat Tradisional 2013;18:95–102. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8036>.
- [14] Noval, Giovanni GUN, Tuti TA. Formulasi dan evaluasi sediaan nanomouthwash ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai pengobatan sariawan. FARMASIS: Jurnal Sains Farmasi 2022;3:76–85. <https://doi.org/10.36456/farmasis.v3i2.6275>.
- [15] Ningrum WA, Wirasti, Permadi YW, Himmah FF, Ulfa F. Uji sediaan lotion nanopartikel ekstrak terong belanda sebagai antioksidan. Jurnal Ilmiah Kesehatan 2021;14:99–104. <https://doi.org/10.48144/jiks.v14i1.539>.
- [16] Siregar HN, Rahayu YP, Nasution HM, Nasution MP. Uji aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst & G. Forst) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia 2023;5:24–41. <https://doi.org/10.33759/jrki.v5i1.329>.
- [17] Ahmad I, Al-dolaimy F, Kzar MH, Kareem AT, Mizal TL, Omran AA, et al. Microfluidic-based nanoemulsion of *Ocimum basilicum* extract: constituents, stability, characterization, and potential biomedical applications for improved antimicrobial and anticancer properties. Microsc Res Tech 2024;87:411–23. <https://doi.org/10.1002/jemt.24444>.
- [18] Jindamporn S, Sooampon S, Lertpimonthai A, Vorapanya A, Wongdechakul C, Markpaiboon W, et al. Efficacy of 0.12% chlorhexidine mouthwash containing 0.001% EDTA versus commercially available chlorhexidine mouthwash in minimizing tooth staining: a randomized clinical trial. BMC Oral Health 2025;25:1890. <https://doi.org/10.1186/s12903-025-07437-6>.
- [19] Milleman K, Bosma ML, McGuire JA, Chen R, DelSasso A, Gorecki P, et al. Efficacy and safety of essential-oil-containing mouthrinses for plaque and gingivitis control in people with diabetes: an examiner-blind, randomised controlled trial. BDJ Open 2026;12:63. <https://doi.org/10.1038/s41405-026-00420-5>.
- [20] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cara pembuatan simplisia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1985.
- [21] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope herbal Indonesia. 2nd ed. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017.
- [22] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. 3rd ed. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1979.
- [23] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Materia medika Indonesia. vol. V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1989.
- [24] Harborne JB. Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
- [25] Mitsui T, editor. New cosmetic science. Amsterdam: Elsevier; 1997.
- [26] Rieger MM. Harry's cosmetology. 8th ed. Chemical Publishing; 2001.
- [27] Rani Z, Ridwanto, Nasution HM, Kaban VE, Nasri N, Karo NB. Antibacterial activity of freshwater lobster (*Cherax quadricarinatus*) shell chitosan gel preparation against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. J Appl Pharm Sci 2023;13:146–53. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2023.130216>.
- [28] Pratiwi ST. Mikrobiologi farmasi. Erlangga; 2008.
- [29] Rahmah AF, Mursyid M, Hurria, Meylany F, Husna A, Nabilah A. Formulasi sediaan mouthwash antibakteri infusa daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan daun serai (*Cymbopogon citrates*) terhadap *Streptococcus mutans*. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia 2024;10:432–8. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.600>.
- [30] Rahayu WP, Nurjanah S, Komalasari E. *Escherichia coli*: patogenitas, analisis, dan kajian risiko. IPB Press; 2018.
- [31] Ahmed MM, Yousef NE, Askoura M, Yahya G, El-Ganiny AM. The battle against dental caries: defeating biofilm formed by bacterial isolates using vanillin and plant essential oils: in vitro and ex vivo approaches. Future J Pharm Sci 2024;10:148. <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00725-y>.

- [32] Emelda, Safitri EA, Fatmawati A. Aktivitas inhibisi ekstrak etanolik *Ulva lactuca* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pharmaceutical Journal of Indonesia 2021;7:43–8.
- [33] Pan PC, Harper S, Ricci-Nittel D, Lux R, Shi W. In-vitro evidence for efficacy of antimicrobial mouthrinses. J Dent 2010;38 Suppl 1:S16–20. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(10\)70006-3](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(10)70006-3).
- [34] Zhakipbekov K, Turgumbayeva A, Akhelova S, Bekmuratova K, Blinova O, Utegenova G, et al. Antimicrobial and other pharmacological properties of *Ocimum basilicum*, Lamiaceae. Molecules 2024;29:388. <https://doi.org/10.3390/molecules29020388>.
- [35] Abass S, Parveen R, Irfan M, Malik Z, Husain SA, Ahmad S. Mechanism of antibacterial phytoconstituents: an updated review. Arch Microbiol 2024;206:325. <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04035-y>.
- [36] Silva BN, Cadavez V, Caleja C, Pereira E, Calhelha RC, Molina AK, et al. Chemical profiles and bioactivities of polyphenolic extracts of *Lavandula stoechas* L., *Artemisia dracunculus* L. and *Ocimum basilicum* L. Food Chem 2024;451:139308. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139308>.
- [37] Schestakow A, Pütz N, Guth MS, Eisenmenger TA, Dudek J, Hannig M. Influence of a hydroxyapatite suspension on 48-h dental biofilm formation in-situ. Arch Oral Biol 2022;136:105388. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2022.105388>.