

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum L.*) TERHADAP BAKTERI
Pseudomonas aeruginosa dan *Staphylococcus aureus***

***ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KEMANGI LEAVES
(Ocimum basilicum L.) ETHYLE FRACTION ON
Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus***

SKRIPSI



Oleh :

Annisa Faththur Istiawati

4171005

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA**

2021

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT
DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) TERHADAP BAKTERI
Pseudomonas aeruginosa dan *Staphylococcus aureus***

***ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KEMANGI LEAVES
(Ocimum basilicum L.) ETHYLE FRACTION ON
Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi
(S.Farm) pada program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan
Nasional di Surakarta**

Oleh :

ANNISA FATHTHUR ISTIAWATI

4171005

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA**

2021

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) TERHADAP BAKTERI
Pseudomonas aeruginosa dan *Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KEMANGI LEAVES
(*Ocimum basilicum* L.) ETHYLE FRACTION ON
Pseudomonas aeruginosa and *Staphylococcus aureus***

Oleh:

ANNISA FATHTHUR ISTIAWATI

4171005

Dipersembahkan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada Tanggal 17 September 2021

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc.

Alip Desi Suyono S, S.Farm., M.Farm.

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional
Ketua Program Studi,

apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc.

Tim Penguji

Ketua: Dr. Didik Wahyudi M.Si

apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc.

apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc.

Alip Desi Suyono S, S.Farm., M.Farm

1. 
2. 
3. 
4. 

HALAMAN PERSEMBAHAN

*Dengan Menyebut Nama Allah SWT
Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang
“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu
Dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”
(Q.s. al-Mujadalah : 11)*

*Manusia takkan tau kekuatan
Maksimalnya sampai ia berada
Dalam kondisi dimana ia dipaksa
Kuat untuk bertahan
-Merry Riana*

*Karya ini saya persembahkan kepada
Ayah dan Bunda Tercinta
dan adik tersayang*

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 16 September 2021



(Annisa Faththur Istiawati)

PRAKATA

Segala puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Fraksi Etil Asetat Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan akademis dalam menyelesaikan kuliah tingkat sarjana di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta. Penulis menyadari sepenuhnya, tanpa bimbingan dari berbagai pihak, Tugas Akhir Skripsi tidak akan dapat diselesaikan dengan baik. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. apt. Hartono, S.Si., M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional dan selaku pembimbing utama yang telah berkenan meluangkan waktu memberikan bimbingan, saran, motivasi, pengarahan, nasehat dan teladan selama penyelesaian skripsi.
3. Alip Desi Suyono S, S.Farm., M.Farm., selaku pembimbing pendamping yang selalu memberikan bimbingan, saran, memotivasi dan nasehat selama penyelesaian skripsi.
4. Dr. Didik Wahyudi M.Si selaku penguji 1 yang telah menguji dan memberikan arahan dan nasehat dalam menulis skripsi ini.

5. apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc., penguji 2 yang telah menguji dan memberikan arahan dalam menulis skripsi ini.
6. Kedua orang tua dan semua keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan semangat bagi penulisan sehingga terselesaikannya skripsi ini.
7. Sahabat serta rekan-rekan mahasiswa Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi sebagai salah satu syarat menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
8. Staf dan Karyawan Program Studi-S1 Farmasi STIKES Nasional, Bagian Biologi Farmasi STIKES Nasional, Bagian Kimia Farmasi STIKES Nasional.
9. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun material.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 20 Agustus 2021

PENULIS

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. <i>Pseudomonas sp.</i>	5
1. Klasifikasi bakteri	5
2. Patogenitas	6
B. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
1. Klasifikasi	8
2. Patogenesis	9
C. Antibakteri.....	10
1. Pengertian.....	10
2. Pengukuran aktivitas antibakteri	11
3. Mekanisme kerja antibakteri	12
D. Tanaman Kemangi	13

1. Klasifikasi tanaman.....	13
2. Deskripsi tanaman.....	14
3. Kandungan daun kemangi.....	16
4. Kegunaan daun kemangi.....	16
E. Metode Penyarian.....	17
1. Ekstraksi.....	17
2. Metode maserasi.....	17
3. Metode fraksinasi.....	18
F. Ciprofloxacin.....	19
1. Efek samping ciprofloxacin.....	19
2. Mekanisme resistensi Ciprofloxacin.....	20
G. Landasan Teori.....	20
H. Kerangka Konseptual.....	22
I. Hipotesis.....	23
BAB III METODE PENELITIAN.....	24
A. Desain Penelitian.....	24
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
C. Populasi dan Sampel.....	24
1. Populasi.....	24
2. Sampel.....	24
D. Alat dan Bahan.....	25
1. Alat.....	25
2. Bahan.....	25
E. Variabel penelitian.....	26
F. Definisi Operasional.....	26
G. Jalannya Penelitian.....	27
1. Persiapan sampel.....	27
2. Ekstraksi.....	28
3. Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol 70%.....	28
4. Skrining fitokimia.....	29
5. Sterilisasi alat.....	30
6. Pembuatan media <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	30
7. Peremajaan Bakteri uji.....	31
8. Pembuatan suspensi bakteri uji.....	31

9. Pembuatan larutan uji.....	31
10. Pengujian antibakteri secara difusi	31
H. Alur Penelitian.....	33
I. Analisis Data.....	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
A. Determinasi Tanaman Daun Kemangi	35
B. Preparasi Sampel.....	35
C. Hasil Skrining Fitokimia	38
D. Identifikasi bakteri	43
1. Pewarnaan gram	43
2. Uji biokimia bakteri gram negatif	44
3. Uji biokimia bakteri gram positif.....	47
E. Uji Aktivitas Antibakteri.....	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	54
A. Kesimpulan	54
B. Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Gambar 2. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Gambar 3. <i>Ocimum basilicum</i> L.	15
Gambar 4. Kerangka konseptual	22
Gambar 5. Alur penelitian.....	33
Gambar 6. Reaksi flavonoid.....	39
Gambar 7. Reaksi alkaloid penambahan reagen mayer	40
Gambar 8. Reaksi alkaloid penambahan reagen dagendroft.....	41
Gambar 9. Reaksi alkaloid penambahan reagen wagner	41
Gambar 10. Reaksi hidrolisis saponin	42
Gambar 11. Reaksi uji tanin.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Uji fitokimia ekstrak daun kemangi	16
Tabel 2. Rendemen hasil fraksi etil asetat daun kemangi	38
Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan senyawa daun kemangi	39
Tabel 4. Hasil uji biokimia bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri	48
Tabel 6. Hasil normalitas bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	49
Tabel 7. Hasil homogenitas bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
Tabel 8. Hasil uji <i>One Way ANOVA</i> bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
Tabel 9. Hasil normalitas bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Tabel 10. Hasil homogenitas bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Tabel 12. Hasil uji <i>One Way ANOVA</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi.....	59
Lampiran 2. Proses maserasi dan fraksinasi	60
Lampiran 3. Uji skrining fraksi etil asetat.....	62
Lampiran 4. Uji biokimia	63
Lampiran 5. Uji antibakteri.....	64
Lampiran 6. Analisis data statistik.....	65
Lampiran 7. Perhitungan larutan sampel	72

DAFTAR SINGKATAN

- MC : Mac.Conkey
BHI : *Brain Heart Infusion*
NA : *Nutrient Agar*
KIA : *Klingers Iron Agar*
SIM : *Sulfide Indol Agar*
MR : *Methyl Red*
VP : Voges Prokauer
Al : *Alkali*
DMSO: Dimetil Sulfoksida
PAD : Phenylalanin Deaminase
MHA : *Mueller Hinton Agar*
FCC : Fraksinasi Cair-cair

INTISARI

Tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) merupakan tanaman yang mengandung minyak esensial dan senyawa fenolik yang berpotensi dikembangkan sebagai antibakteri. Kandungan paling utama pada kemangi yaitu minyak atsiri yang terdapat pada bagian daun dan bagian-bagian yang terdapat pada bagian yang tumbuh di atas tanah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun kemangi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Fraksi daun kemangi merupakan hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun kemangi yang diperoleh dengan mengsuspendi menggunakan air kemudian difraksinasi dengan menggunakan metode fraksinasi cair-cari (FCC). Fraksi etil asetat yang didapatkan kemudian di uji aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 25%,50% dan 100% menggunakan metode difusi cakram. Pada penelitian ini digunakan kontrol positif ciprofloxacin 5µl dan kontrol negatif DMSO 10%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, namun berbeda signifikan dengan kontrol positif ciprofloxacin. Fraksi etil asetat daun kemangi yang memberikan zona hambat paling besar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat rata-rata 18,9 mm dan zona hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 14,13 mm.

Kata kunci: antibakteri, fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.), *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

Ocimum basilicum leaves is a plant that contains essential oils and phenolic compounds that have the potential to be developed as antibacterial. The most important content in basil is the essential oil found in the leaves and the parts that grow above the ground. This study aims to determine the antibacterial activity of the ethyl acetate fraction of basil leaves against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.

Ocimum basilicum leaves fraction is the result of fractionation of ethanol extract of basil leaves obtained by suspension using water and then fractionated using liquid-liquid extraction (LLE) method. The ethyl acetate fraction obtained was then tested for antibacterial activity with concentrations of 25%, 50% and 100% using the disc diffusion method. In this study, a positive control of 5 µl ciprofloxacin and a negative control of 10% DMSO was used.

The results showed that the ethyl acetate fraction could inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* bacteria, but it was significantly different from the positive control of ciprofloxacin. The ethyl acetate fraction of *Ocimum basilicum* leaves which gave the greatest inhibition zone against *Pseudomonas aeruginosa* was at a concentration of 100% with an average inhibition zone diameter of 18.9 mm and the greatest inhibition zone against *Staphylococcus aureus* was at a concentration of 100% with an average diameter of the inhibition zone of 14.13 mm.

Keywords: antibacterial, ethyl acetate fraction of *Ocimum basilicum* leaves, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang utama di negara maju dan berkembang. Penyakit infeksi ialah penyakit yang disebabkan oleh masuk dan berkembang biaknya mikroorganisme, suatu kelompok luas dari organisme mikroskopik yang terdiri dari satu atau banyak sel seperti bakteri, fungi, dan parasit serta virus (Mandell, 2010).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menjadi masalah serius pada pasien rumah sakit yang menderita kanker, fibrosis kistik dan luka bakar. Angka fatalitas pasien-pasien tersebut mencapai 50% (Nurmala, 2015). *Pseudomonas aeruginosa* mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh. Kultur darah pasien bacteremia ditemukan adanya *Pseudomonas aeruginosa* (Lutpiatina, 2015).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen bagi manusia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *Staphylococcus aureus* dengan derajat keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang mengancam jiwa (Jawert, 2006). Spesies ini bersifat patogen dan menyebabkan sejumlah infeksi yang menyerang individu sehat.

Penyebab timbulnya penyakit infeksi di Indonesia yang dipengaruhi oleh iklim juga didukung oleh beberapa faktor lain, misalnya kesadaran masyarakat

akan kebersihan yang kurang, jumlah penduduk yang padat, kurangnya pengetahuan dan implementasi dari sebagian besar masyarakat mengenai dasar infeksi, prosedur yang tidak aman (penggunaan antibiotik yang dipergunakan tidak tepat), serta kurangnya pedoman dan juga kebijakan dari pemerintah mengenai penggunaan antibiotik (Nursidika *et al*, 2014).

Penanganan infeksi dapat diobati dengan penggunaan antibiotika yang rasional, tepat dan aman, akan tetapi dapat menimbulkan terjadinya kenaikan angka infeksi yang diakibatkan karena bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang mengalami peningkatan resistensi Di Amerika Serikat, dari 51.000 infeksi *Pseudomonas aeruginosa* di tiap tahun, lebih dari 6.000 (13%) mengalami *multi-drug resistant* (MDR) (CDC, 2013). Oleh karena itu, perlu dilakukan penangatan penyakit infeksi, dengan memanfaatkan tanaman herbal yang relatif lebih aman, murah dan lebih mudah digunakan oleh sebagian masyarakat, salah satunya tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sebagai pengobatan herbal (Lukman 2016).

Tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis ini merupakan herbal tegak tinggi 0,3-1,5 m. Kemangi mengandung senyawa kimia antara lain tannin, flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin dan minyak atsiri (Sarah, 2015). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa kandungan flavonoid daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dapat memberikan efek antibakteri dalam kategori kuat dengan konsentrasi ekstrak 10% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*,

Propionibacterium acnes dan *Pseudomonas aeruginosa* (Syamsul, 2015). Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa kombinasi dari kedua senyawa flavonoid daun kemangi yaitu orientin dan visenin memberikan efek antibakteri yang sinergis (saling menguatkan) dibandingkan dengan penggunaan salah satu dari kedua senyawa flavonoid tersebut (Ali dan Sativa, 2012).

Menurut Aminah (2019) ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi terbaik 100% yang mempunyai daya hambat sebesar 10,26mm. Ekstrak etanol daun kemangi memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, dengan zona hambat tertinggi *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100% dengan hasil zona hambat 21,75mm dan *Salmonella typhi* pada konsentrsai 80% dengan hasil zona hambat 6,25mm (Threenesia, 2019). Kedua penelitian tersebut menggunakan metode difusi cakram sebagai uji aktivitas antibakteri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi lebih lanjut tentang kandungan daun kemangi yang berpotensi sebagai antibakteri, sehingga penelitian ini dikembangkan ke tahap fraksinasi. Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun kemangi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah fraksi etil asetat daun kemangi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Pada konsentrasi berapa fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang memberikan zona hambat paling besar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk menganalisis adanya pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk menganalisis konsentrasi fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang memberikan zona hambat paling besar terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang aktivitas antibakteri dari daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap pengobatan obat tradisional.
2. Dapat menambah sumber data ilmiah atau rujukan bagi penelitian selanjutnya tentang potensi fraksi daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan melakukan analisis pada data antibakteri dari berbagai konsentrasi fraksi daun kemangi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Juni 2021. Pelaksanaan Ekstraksi dan Fraksinasi dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Bahan Alam Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional dan untuk pelaksanaan uji aktivitas antibakteri di Laboratorium Mikrobiologi STIKES Nasional.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diambil dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) bagian yang diambil dari tanaman kemangi ini yaitu daun

yang masih segar dan diambil secara acak berwarna hijau, dari kabupaten Karanganyar. Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari agar daun masih dalam keadaan segar.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol maserasi, neraca analitik (Acis BC 500), blender (Philips), rotary evaporator (IKA HB 10 basic), bejana maserasi, waterbath, cawan penguap (pyrex), corong pisah (pyrex), mikropipet (dragonlab), cawan petri steril (Pyrex), jarum ohse, korek api, gelas ukur (pyrex), beaker gelas (pyrex), kertas saring, kertas label, mikroskop binokuler, pipet volume, rak tabung reaksi, kapas lidi steril, pipet tetes, oven, autoklaf, hot plate.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang berasal dari kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%, Aquadest, N-heksan, Etil Asetat, FeCl₃, HCl 2N, FeCl₃ 0,1%, kertas saring, aluminum foil, kertas label, spirtus, desinfektan, larutan pereaksi dangedroff, pereaksi wagner, pereaksi mayer, DMSO 10%, minyak emersi, Gram A (Kristal violet), Gram B (iodine), Gram C, Gram D (Safranin), standar 0,5 Mc.Farland dan disk Ciprofloxacin 5µg.

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi STIKES Nasional Surakarta. Media yang digunakan adalah *Nutrien agar*, BHI, SIM, MR-VP, Citrat, Urea, KIA, dan MHA (*Muller Hinton Agar*), *Mac Conkey*, PAD, glukosa, laktosa, manitol dan sukrosa.

E. Variabel penelitian

- a. Variabel bebas : Penggunaan konsentrasi antibakteri fraksi daun kemangi 25%, 50%, dan 10
- b. Variabel terikat : Pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada media *Nutrien agar*.

F. Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol daun kemangi adalah hasil dari ekstraksi daun kemangi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.
2. Fraksi etil asetat merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksi daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) merupakan hasil fraksinasi terhadap ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air lali dipekatkan

menggunakan *rotary evaporator*. Filtrat diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh fraksi pekat.

3. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
4. Zona radikal adalah zona dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, artinya pertumbuhan bakteri dihambat seluruhnya atau bakteri cenderung sensitif terhadap bahan uji.
5. Fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dikatakan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* ditandai dengan terbentuknya zona hambat radikal pada media.

G. Jalannya Penelitian

1. Persiapan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang berwarna hijau, masih segar tanpa adanya bercak, berlubang dan dipetik atau dipanen dilakukan saat pagi hari, diambil dari daerah Kecamatan Jumantono Kabupaten Karanganyar. Sampel sebanyak 2 kg yang masih segar dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan air mengalir, lalu ditiriskan. Daun kemangi yang telah dibersihkan kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung dengan cara ditutup dengan kain hitam, sampai kering simplisia kering kemudian dihaluskan kemudian dijadikan serbuk dan ditimbang.

2. Ekstraksi

Serbuk simplisia daun kemangi yang digunakan sebanyak 800g dimasukkan ke dalam bejana gelap, lalu ditambahkan pelarut etanol 70% (1:7) dan ditutup rapat serta terhindar dari cahaya matahari langsung, proses perendaman selama 3 hari sambil diaduk. Setelah 3 hari, campuran simplisia dan etanol diserkai sehingga diperoleh maserat (1) Ampas direndam kembali dengan pelarut etanol 70% (1:3) selama 2 hari, disaring kembali dan diperoleh maserat (2) Maserat (1) dan (2) diendapkan semalam kemudian dipisahkan dari residu dan dipekatkan menggunakan *Rotarry evaporator* pada suhu 50 °C dilanjutkan dengan pemanasan menggunakan *watherbath* hingga diperoleh ekstrak kental etanol. Ekstrak yang didapat kemudian dihitung rendemennya.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

3. Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol 70%

Ekstrak etanol daun kemangi yang didapat dengan etanol : aquadest (1:1) kemudian dipartisi dalam corong pisah dengan n-heksan kemudian gojok hingga menghasilkan larutan sampai bening, setelah itu didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan cairan yaitu fraksi n-heksan pada bagian atas, fraksi air bagian lapisan bawah. Fraksi ini bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada ekstrak etanol berdasarkan perbedaan polaritas. Residu dari fraksinasi n-heksan dipartisi dalam corong pisah lagi dngan menambahkan etil asetat hingga didapatkan larutan yang bening. Hasil fraksi

etil asetat kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50 °C hingga diperoleh fraksi kental kemudian ditimbang.

4. Skrining fitokimia

a. Golongan flavonoid

Sampel fraksi etil asetat sebanyak 10mg ditambahkan 5ml etanol dan beberapa tetes FeCl₃ sampai terjadi perubahan warna biru, ungu, hijau, merah maupun hitam perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa adanya kandungan flavonoid.

b. Golongan alkaloid

Sampel fraksi etil asetat sebanyak 10mg ditambahkan kedalam 3 tabung reaksi, masing masing 1 ml. tiap tabung reaksi ditambahkan dengan masing - masing reagen. Pada tabung 1 ditambahkan dengan reagen mayer, pada tabung 2 dengan penambahan reagen wagner, positif mengandung alkaloid apabila didapatkan endapan berwarna coklat. Tabung ke 3 dengan penambahan reagen deagrntroft, positif mengandung alkaloid apabila terdapat endapa jingga.

c. Golongan saponin

Sampel ditambahkan air panas sebanyak 5ml, didinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk buih 1-10 cm tidak kurang 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N, buih tidak hilang.

d. Golongan tanin

Sampel sebanyak 0,5 gram direbus di dalam 20 ml akuades didalam tabung reaksi. Saring dan ditambahkan beberapa tetes FeCl 0,1% sampai berubah warna. Hasil positif mengandung tannin ditunjukan dengan munculnya warna hijau kecoklatan atau warna biru hitam.

5. Sterilisasi alat

Alat-alat disterilkan terlebih dahulu dicuci dengan bersih dan id keringkan. Untuk alat-alat gelas (tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, pipet). Ditutup dengan kapas yang disumbatkan dibalut rengan kain kasa dan dibungkus dngan kertas perkamen, begitu juga dengan cawan petri dan corong, kemudian semuanya di sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 mnit. Pinset, jarum oshe, dan kaca objek disterilkan dengan cara pemijaran dengan jalan melewati diatas nyala api selama 20 detik. Kertas cakram di sterilkan dengan memasukkan kertas cakram kedalam cawan petri terlebih dahulu kemudian dibngkus dengan kertas perkamen dan disterilkan ke dalam autoklaf pada suhu 120°C selama 15 menit.

6. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Sebanyak 4 gram Media Nutrien Agar (NA) dilarutkan dalam 200 mL akuades steril. Media dipanaskan sampai mendidih. Dilakukan pengadukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* untuk memastikan media terlarut sempurna. Setelah media terlarut sempurna kemudian siautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu ditunggu sampai suhu hangat (40°C - 50°C) (Ngajow, *et al.*, 2013).

7. Peremajaan bakteri uji

Bakteri yang telah di murnikan diinokulasi dengan cara menggoreskan 1-2 jarum ose ke media agar miring zig-zag, kemudian diinkubasi pada suhu 36°C selama 24-48 jam hingga diperoleh pertumbuhan yang normal.

8. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri yang telah diremajakan dalam medium Nutrien Agar (NA) miring disuspensikan dalam 10 ml larutan NaCl 0,9%. Pembuatan suspense dilakukan dengan cara mengambil beberapa koloni bakteri dari *Natrium Agar* (NA) miring dengan menggunakan oshe, kemudian masukkan oshe ke dalam tabung yang mengandung 5 ml cairan NaCl 0,9%. Perhatikan kekeruhan cairan NaCl yang telah diinokulasi bakteri tersebut sampai kekeruhan sebanding dengan suspense standar *Mc.Farland* (konsentrasi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

9. Pembuatan larutan uji

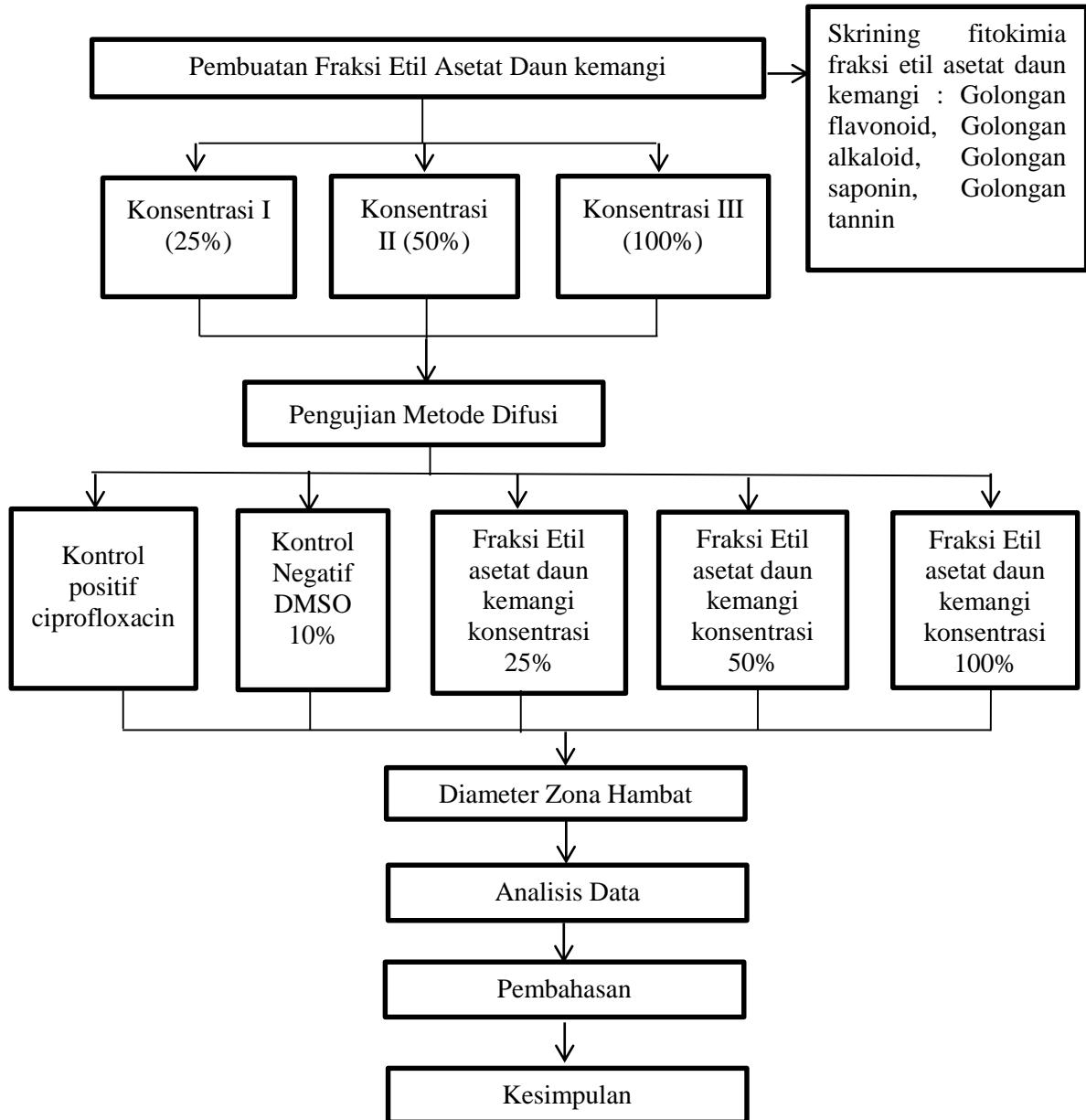
Larutan uji dibuat dengan menimbang ekstrak fraksi, kemudian dilarutkan dengan pelarut DMSO. Selanjutnya diencerkan menjadi konsentrasi 25%, 50% dan 100% dengan pelarut DMSO.

10. Pengujian antibakteri secara difusi

Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam media NA, diratakan secara merata pada permukaan medium. Diamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Setiap cakram ditetesi sebanyak 20 µl fraksi etil asetat, ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan DMSO 10%

sebagai kontrol negatif, diteteskan secara aseptis menggunakan pinset steril. Cakram yang telah mengandung ekstrak dimasukkan kedalam medium dengan jarak cakram satu dengan yang lainnya 2-3 cm dipinggir cawan petri. Dilakukan masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, kemudian diukur diameter zona hambat sekitar *disk* yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar *disk* menandakan bahwa kandungan daun kemangi memiliki daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji.

H. Alur Penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

I. Analisis Data

Data yang diperoleh digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri antar konsentrasi fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan kontrol positif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram, dalam penelitian ini dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong dan analisis data menggunakan *One Way ANOVA* satu jalan dengan menggunakan *software* SPSS versi 22. Fraksi etil asetat daun kemangi dikatakan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* apabila terbentuk zona hambat pada media Na plate.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, namun dinyatakan berbeda secara signifikan dengan kontrol positif ciprofloxacin.
2. Fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) yang memberikan zona hambat paling besar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat rata-rata 18,9 mm dan konsentrasi fraksi etil asetat daun kemangi yang memberikan zona hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 14,13 mm.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian fraksi N-heksan dan Fraksi air daun kemangi sebagai antibakteri, antioksidan dan sebagai sediaan antiseptik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abfidah, Rizqiani. (2014). Ekstraksi Dan Uji Stabilitas Antosianin Dari Daun Jati Muda (*Tectona grandis* L.f). *Skripsi Pendidikan Kimia UIN Sultan Syarif Kasim Riau*.
- Ali, H dan Savita, D, 2012. In Vitro Antimikrobal Activity Of Flavonoids Of *Ocimum sanctum* with Synergistic Effect of Their Combined From. *Asian Pasific Journal of Tropical Disease*.
- Baseer M. and Jain K. 2016. Review of Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary applications and Toxicology of *Ocimum sanctum*. *Int. J. Pharm. Life Sci.*, 7(2):4918-4929.
- Bilal, Alia et al, 2012, Phytochemical and Pharmacological Studies on *Ocimum basilicum* Linn-A Review, *IJCRR*, 4 (23), 73-83.
- Brooks G, Butel J, Morse S, 2010. Mikrobiologi Kedokteran, Jakarta, Indonesia: Salemba Medika.
- Carroll KC, Butel JS, Morse, and all (2013). Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg. Ed. 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta
- CDC. 2013, Januari 10. *Centers for Disease Control and Prevention*. Retrieved Januari 16, 2014, from <http://www.cdc.gov/parasites/ascariasis/>
- Dafianto, Riski. (2016). Pengaruh Relaksasi Otot Progresif terhadap Resiko Ulkus Diabetik pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 di Wilayah Kerja Puskesmas Jelbuk Kabupaten Jember. *Jurnal Nasional: Jurnal Keperawatan Universitas Jember*.
- Decroli E dan Karimi J.2008.Profil Ulkus Diabetik Pada Penderita Rawat Inap diBagian Penyakit Dalam RSUP Dr M. Djamil Padang. *Majalah kedokteran Indonesia*. Volume: 58. Nomor: 1.
- Fachruddin, H. *Analisis Fitokimia Tumbuhan*. Fakultas Farmasi. Universitas Hasanuddin. Makassar.Fachruddin. 2001.
- Febrianto, A.W., Mukaddas, A., Faustine, I. 2013, Rasionalitas penggunaan antibiotik, Infeksi saluran kemih, Farmasi : Untad.
- Goodman, A., dan Gilman, H. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*.Edisi *kese puluh*. Volume 1. Jakarta: EGC. Hal.682-684.
- Jawets, Melnick, and Adelberg's,. *Mikrobiologi Kedokteran*. Alih bahasa oleh dr.Aryadhito Widhi Nugroho,dkk. Jakarta: EGC. 2013.
- Jawetz, Melnick, Adeberg. 2012. *Mikroiologi Kedokteran*. Edisi 25. Jakarta:Salemba Medika.

- Jawetz, Melnick, 2014. *Mikrobiologi kedokteran*. Jakarta: Salemba Medica.
- Integrated Taxonomic Information (ITIS). 2021. *Taxonomic Hierarchy : Ocimum basilicum L.* (<http://www.itis.gov>), diakses 26 Februari 2021)
- Kusuma, Weda, 2010. Efek ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap kerusakan hepatosit mencit akibat minyak sawit dengan pemanasan berulang. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas sebelas maret.
- Lukman, A. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Bakteri Patogen dengan Metode KLT Bioautografi. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Lumempouwa, L.I., E. Suryanto, and J.J.E. Paendonga, Aktivitas Anti UV-B Ekstrak Fenolik dari Tingkol Jagung (*Zea mays L.*). *JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE.*, 2012. 1(1): p.
- Lutpiatina L. *Pewarnaan Gram Buffy Coat Untuk Deteksi Awal Pasien Bakteremia, Med. Lab. Tecnol. J.*, vol. 1, no. 1, pp. 38–46, 2015.
- M. L. F. Kumalasar and F. Andiarna, *Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum basilicum L.)*. *Indones. J. Heal. Sci.*, vol. 4, no. 1, pp. 39-44, 2020.
- Mandell GL, Bennet JE, Colin R. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Elsevier Book Aid; 2010. Hal.7.
- Maryati. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi (*ocimum basilicum l.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 2007. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Vol. 8(1): 37-41.
- Misnadiarly dan Djajaningrat, 2014. *Diabetes Mellitus : Ulcer, Infeksi, Ganggren*. Jakarta: Penerbit Populer Obor.
- Mutiasari, IR, 2012. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Fraksi Aktif, *Journal. Aktivitas antibakteri fraksi-fraksi daun bidara*. Jakarta: FMIPA-UI
- Nugroho AW, translator. Books GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA, 2013. *Mikrobiologi Kedokteran* Jawetz, Melnick, & Adelberg. Ed. 25. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Nurmala, I. Virgiandhy, Andriani, and D. Liana, 2015. *Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr.soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. Resistensi dan Sensitivitas Bakteri*, vol. 3, no. 1, pp. 21–28.
- Nurmashita D, Rijai L, Riski S, 2015, Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) terhadap Aktivitas Antibakteri Basis Pasta Gigi, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(4), pp. 159-167.

- Nursidika, P., Saptarini O., Rafiqua, N. 2014. Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pinang (*Areca catechu* L) pada Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *MKB*, Vol. 46 No. 2, p. 95
- Radji, M. (2016). Buku Ajar Mikrobiologi : *Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. (S. A. July Manurung, Penyunt.) Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Retnowati, Y., Bialangi, N., dan Posangi, N.W. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media Yang Di Ekspose Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*), 6 (2):7-8.
- Rosdahi, C. B., & Kowalski, M. T. (2015). *Buku Ajar Keperawatan Dasar*. Edisi 10. Jakarta: EGC.
- Singh, N. 2013. *Therapeutic potential of Ocimum sanctum in prevention and treatment of cancer and exposure to radiation*. *Int J Pharm Sciences and Drug Research* 2012; 4(2): 97-104
- Soedarto. (2015). Mikrobiologi Kedokteran .jakarta: CV. Sagung Seto.
- Threonesia, Atika, Ramadhian, Ricky, M. (2019). Perbandingan Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Wibowo adi arianto, 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Penurunan Kadar kreatinin Dalam Darah Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Paracetamol. *Perpustakaan.uns. ac.id*. Hal 6.
- Yuhana SA, Kusdarwati R, Meles K, 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.). *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga.
- Zahra, L. S. & Iskandar, Y. (2017). Review Artikel :Kandungan Senyawa Kimia Dan Bioaktivitas. *Jurnal Farmakala*, 15, 143–152.