

**PERBANDINGAN DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 70%
DAN 96% DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum* L) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* ESBL**

SKRIPSI



**ULFA KINASIH
3171021**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**PERBANDINGAN DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 70%
DAN 90% DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum* L) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* ESBL**

SKRIPSI

Diajukan sebagai persyaratan menyelesaikan jenjang pendidikan
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis



**ULFA KINASIH
3171021**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

PENGESAHAN

SKRIPSI

PERBANDINGAN DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 70%
DAN 96% DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* ESBL

Oleh :

Ulfa Kinasih

NIM. 3171021

Telah dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis

Pada tanggal 14 Juli 2021 di Surakarta

Dewan Penguji,

Yusianti Silviani, M.Pd

(Ketua)

Ardy Prian Nirwana, M.Si

(Anggota Penguji I)

Vector Stephen Dewangga,
M.Si

(Anggota Penguji II)



Mengetahui

Ketua Program Studi Sarjana Terapan

Teknologi Laboratorium Medis

M. Taufiq Qur'ehman, M.sc



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi dengan judul :

PERBANDINGAN DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 70% DAN 96% DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* ESBL

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan jenjang pendidikan Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulisan skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah dirilis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada skripsi ini, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 14 Juli 2021



Ulfa Kinasih

3171021

MOTTO

Rasulullah bersabda : Barangsiapa menempuh jalan untuk mendapatkan ilmu,
Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga.

(HR. Muslim)

Cukuplah Allah menjadi penolong bagi kami dan Dia sebaik-baiknya pelindung.

(QS. Ali Imran : 173)

Karena sesungguhnya di dalam setiap kesulitan itu ada kemudahan.
Sesungguhnya dalam setiap kesulitan itu ada kemudahan.

(QS. Insyirah : 5-6)

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan kepada :

Allah SWT atas segala Nikmat, Rahmat serta Hidayah-Nya sehingga memberikan kemudahan dan kelancaran dalam penyusunan skripsi ini.

Orang tua dan kakak tercinta yang selalu menyebut nama saya dalam doa, selalu memberi dukungan dan semangat terbaik.

Saudara dan keluarga besar yang selalu memberi dukungan dan semangat.

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Allah SWT atas segala karunia, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% dan 96% Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL” sebagai syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga memberikan kelancaran dan kemudahan dalam pengerjaan skripsi ini.
2. Bapak Apt. Hartono, M.Si., Apt selaku ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah memberikan izin dan fasilitas kepada penulis untuk menyelesaikan Skripsi.
3. Bapak M. Taufiq Qurrohman, M. Sc selaku kepala Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk membuat dan menyelesaikan Skripsi.
4. Bapak Vector Stephen Dewangga, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing yang telah membantu, memberi semangat, motivasi, pengarahan, dan membimbing dalam penyusunan Skripsi.

5. Bapak Ardy Prian Nirwana, S.Pd.Bio.,M.Si dan Ibu Yusianti Silviani, S.Pd.Bio.,M.Pd selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran dalam penyusunan Skripsi.
6. Bapak Sukarno dan Almh.Ibu Sukini atas perjuangan, kasih sayang, dukungan dan semangat selama ini.
7. Kakakku Angga Prasetyo, S.Pd yang memberiku motivasi dan semangat.
8. Almamater Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
9. Seluruh dosen Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis yang telah memberikan ilmu dan pengalaman yang sangat bermanfaat.
10. Wibowo, A.Md, Johan, A.Md, Verry, A.Md selaku laboran skripsi yang selalu membantu menyediakan alat dan bahan untuk penelitian.
11. Adnan Kurniawan Aji Prasetyo orang spesial yang selalu menemani, membantu, selalu mendengar keluh kesahku dan memberi semangat dalam segala hal.
12. Sahabatku Aurelika Rizky Alfunnisa yang telah membantu dan selalu menemaniku dalam persiapan penelitianku.
13. Sahabat-sahabatku Ayu Adhita Rini, Dika Wigi Mahestina, Reza Yuliana, Nika Oktavianus yang telah membantu dan memberi semangat dalam mengerjakan skripsi ini.

14. Tim skripsi Bakteriologi Laurencia Destivani V.W, Riska Juliana atas kerjasamanya selama penelitian dan penyusunan skripsi.

15. Teman-teman Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis angkatan 2017 yang telah menjadi keluarga dan memberi semangat.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Demikian penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan, serta pengembangan di bidang Teknologi Laboratorium Medis.

Surakarta, 14 Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN KEASLIAN SKRIPSI	v
MOTTO	vi
PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Pembatasan Masalah	4
C. Rumusan Masalah	4
D. Tujuan Penelitian	5
E. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Landasan Teori	7
B. Kerangka Pikir	19
C. Hipotesis	20
BAB III METODE PENELITIAN	21
A. Desain Penelitian	21
B. Tempat dan Waktu Penelitian	21
C. Subyek dan Obyek Penelitian	21
D. Populasi dan Sampel Penelitian	22
E. Definisi Operasional Variabel Penelitian	22
F. Teknik Sampling	24
G. Sumber Data Penelitian	24
H. Instrumen Penelitian	25
1. Alat	25
2. Bahan	25
I. Alur Penelitian	26
1. Bagan	26
2. Cara Kerja	27
J. Teknis Analisis Data Penelitian	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
A. Hasil	34
B. Pembahasan	40
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	46
A. SIMPULAN	46
B. SARAN	46
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Kerangka Pikir.....	19
Gambar 3. 1 Bagan Alur Penelitian	26

INTISARI

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri, salah satunya adalah infeksi pada saluran pencernaan yang dapat menyebabkan diare. *Escherichia coli* ESBL merupakan jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam. Daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) telah diketahui memiliki manfaat sebagai antibakteri yang bisa digunakan untuk pengobatan alternatif. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya daya hambat ekstrak etanol 70% dan 96% daun kemangi terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL.

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksperimental dengan variasi konsentrasi yaitu 100.000 ppm, 200.000 ppm, 300.000 ppm, 400.000 ppm, 500.000 ppm pada masing-masing ekstrak etanol. Pada penelitian ini digunakan antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji statistik non-parametric.

Hasil penelitian ekstrak daun kemangi dengan pelarut etanol 70% dan 96% daun *Ocimum sanctum* L. mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL.

Pada uji difusi menunjukkan rata-rata nilai diameter daerah penghambatan terbesar pada konsentrasi 500.000 ppm ekstrak 70% (7,38 mm) dan 96% (7,25 mm) daun *Ocimum sanctum* L.

Kata kunci : daun *Ocimum sanctum* L, *Escherichia coli* ESBL, Antibakteri.

ABSTRACT

Infectious diseases are diseases caused by bacteria, one of which is an infection in the digestive tract that can cause diarrhoea. *Escherichia coli* ESBL is a type of bacteria that is resistant to beta-lactam antibiotics. Basil leaves (*Ocimum sanctum* L.) have been known to have antibacterial properties that can be used for alternative medicine. The purpose of this study was to prove the inhibition of ethanol extract of 70% and 96% of basil leaves on the growth of *Escherichia coli* ESBL.

This research used a descriptive experimental method with concentration variations of 100,000 ppm, 200,000 ppm, 300,000 ppm, 400,000 ppm, 500,000 ppm for each ethanol extract. In this study, the antibiotic Ciprofloxacin 5 g was used as a positive control and 10% DMSO as a negative control. Data analysis in this study used non-parametric statistical tests.

The results of this study are that basil leaf extract with 70% ethanol and 96% *Ocimum sanctum* L. leaves was able to inhibit the growth of *Escherichia coli* ESBL.

The diffusion test showed that the average diameter of the largest inhibition zone was at a concentration of 500,000 ppm extract 70% (7.38 mm) and 96% (7.25 mm) of *Ocimum sanctum* L leaves.

Keywords: Ocimum sanctum L leaves, Escherichia coli ESBL, Antibacterial

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kemangi (*Ocimum sanctum* L) merupakan tanaman yang mudah didapatkan karena tersebar hampir diseluruh Indonesia dan dapat tumbuh liar atau dibudidayakan (Sudarsonoet al., 2002). Secara tradisional kemangi (*Ocimum sanctum* L) dapat digunakan sebagai obat sakit perut, obat demam, menghilangkan bau mulut, dan sebagai sayuran. Kemangi (*Ocimum sanctum* L) memiliki senyawa aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, tannin dan fenol. Beberapa golongan kandungan kimia tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Klebsiella pneumonia* seperti senyawa alkaloid, minyak atsiri dan fenol. Sifat dari penghambatan ini disebut sebagai bakteriostatik atau bakteriosida (Hadipoentyanti dan Wahyuni, 2008).

Penyakit infeksi sejak dulu hingga sekarang merupakan penyakit yang banyak dialami masyarakat Indonesia. Penyakit infeksi yang banyak diderita masyarakat adalah infeksi usus yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, sedangkan penyebab penyakit infeksi kulit

adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan sebagainya. Penanggulangan infeksi bakteri dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik, karena antibiotik memiliki peranan penting dalam mengatasi bakteri di dalam tubuh. Namun jika hanya dengan pemberian antibiotik belum memberikan hasil yang maksimal dalam upaya mengatasi terjadinya infeksi bakteri. Hal ini dikarenakan setiap bakteri memiliki resistensi yang berbeda terhadap suatu antibiotik (Oktalia, 2009 dalam Angelina, 2015).

Escherichia coli adalah family Enterobacteriaceae dan merupakan bakteri patogen oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi pada inang yang terganggu sistem imunnya. Pada umumnya bakteri *Escherichia coli* merupakan mikroflora normal pada usus manusia. Tetapi beberapa bakteri yang bersifat patogenik (Gyles, 1983). Bakteri ini yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan manusia, infeksi yang disebabkan adalah diare. Bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkan (Angelina, 2015).

Agar dapat menghambat maupun membunuh bakteri-bakteri penyebab diare yang terdapat pada saluran pencernaan biasanya menggunakan obat-obatan yang mengandung antibiotik sintetis. Antibiotik sintetis memiliki beberapa kelemahan, yaitu selain harganya yang mahal, bakteri baik juga dapat ikut terbunuh. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten. Ada juga efek samping yang

ditimbulkan, diantaranya adalah gangguan saluran pencernaan, alergi, demam, gangguan peredaran darah, kelainan hati dan gangguan fungsi ginjal (Falah, 2007 dalam Kadarohman, 2011).

Untuk mengurangi konsumsi antibiotik sintetis dapat dilakukan dengan mengkonsumsi antibiotik alami yang bersumber dari tumbuhan untuk menghambat atau membunuh bakteri. Keuntungan dari mengkonsumsi antibiotik alami selain harganya murah diharapkan efek samping yang ditimbulkan lebih rendah dibandingkan antibiotik sintetis (Kadarohman dkk, 2011).

Zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri akan semakin besar seiring dengan peningkatan konsentrasi yang ditambahkan. Adanya perbedaan zona hambatan pada masing-masing konsentrasi disebabkan karena perbedaan besarnya zat aktif yang terkandung pada konsentrasi tersebut. Semakin besar suatu konsentrasi, maka semakin besar pula komponen zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga zona hambat yang terbentuk juga berbeda. Begitupun dengan pelarut etanol 96%, konsentrasinya yang tinggi dapat mengikat lebih banyak zat aktif yang terkandung pada daun *Ocimum sanctum* L, maka daya hambat dari pelarut tersebut akan lebih besar (Brooks, 2005).

Berdasarkan dari uraian di atas dengan adanya indikasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L), maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk mengetahui adanya daya hambat antibakteri dari ekstrak tanaman tersebut. Pada uji daya hambat antibakteri ini menggunakan

bakteri *Escherichia coli* ESBL. Namun untuk penelitian kali ini dilakukan perbandingan daya hambat bakteri *Escherichia coli* ESBL dengan ekstrak etanol 70% dan 96% daun kemangi (*Ocimum sanctum* L). Dimana penelitian kali ini pembuatan ekstrak daun kemangi menggunakan pelarut etanol 70% dan 96%, yang bertujuan untuk membandingkan apakah ada perbedaan daya hambat bakteri *Escherichia coli* ESBL dengan ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) yang menggunakan pelarut etanol 70% dan ekstrak daun *Ocimum sanctum* L yang menggunakan pelarut etanol 96%.

B. Pembatasan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, pembatasan masalah dalam penelitian ini adalah adanya perbedaan daya hambat bakteri *Escherichia coli* ESBL menggunakan ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) dengan berbagai konsentrasi, yakni 100.000 ppm, 200.000 ppm, 300.000 ppm, 400.000 ppm, 500.000 ppm.

C. Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat perbedaan signifikan antar variasi konsentrasi ekstrak etanol 70% dan 96% daun *Ocimum sanctum* L. yang mampu membentuk zona radikal pada *Escherichia coli* ESBL?

2. Pada konsentrasi pelarut etanol manakah yang memiliki daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL?
3. Apakah konsentrasi 500.000 ppm dari ekstrak etanol 70% dan 96% *Ocimum sanctum* L mampu menghasilkan zona radikal setara dengan kriteria sensitif terhadap antibiotik *Cefotaxime* 30 µg berdasarkan CLSI 2020 pada pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL?

D. Tujuan Penelitian

1. Mampu mengetahui perbedaan signifikan antar variasi konsentrasi ekstrak etanol 70% dan 96% *Ocimum sanctum* L. yang mampu membentuk zona radikal pada *Escherichia coli* ESBL.
2. Mampu mengetahui konsentrasi pelarut etanol manakah yang memiliki daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL.
3. Mampu mengetahui apakah konsentrasi 500.000 ppm dari ekstrak etanol 70% dan 96% daun *Ocimum sanctum* L mampu menghasilkan zona radikal setara dengan kriteria sensitive terhadap antibiotik *Cefotaxime* 30 µg berdasarkan CLSI 2020 pada pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL.

E. Manfaat Penelitian

Dengan diadakannya penelitian ini, hasil penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat untuk :

1. Aspek Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat bagi para pembaca tentang perbandingan daya hambat ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) serta memperoleh ilmu pengetahuan yang lebih luas dalam bidang bakteriologi.

2. Aspek Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pembaca maupun masyarakat agar memanfaatkan bahan-bahan alami disekitar kita seperti ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) untuk mengatasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* ESBL.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksperimental dan metode analitik dengan melakukan uji daya hambat antibakteri dengan perbandingan ekstrak etanol 70% dan 96% daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian perbandingan daya hambat ekstrak etanol 70% dan 96% daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL dilaksanakan di Laboratorium mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta pada bulan Februari- Maret 2021.

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek

Ekstrak etanol 70% dan 96% daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) yang akan dilakukan pengujian pada bakteri *Escherichia coli* ESBL dan akan diamati adanya perbedaan daya hambat pada pertumbuhan bakteri tersebut.

2. Objek

Daya hambat ekstrak etanol 70% dan 96% daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) dengan konsentrasi yang berbeda serta uji kualitatif ekstrak bahan alam yang akan diujikan terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi sampel

Populasi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.).

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) yang diperoleh proses ekstraksi metode perkolasi dengan menggunakan bahan pelarut etanol 70% dan 96%.

E. Definisi Operasional dan Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis pelarut yang digunakan yaitu etanol 70% dan etanol 96% ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) dengan konsentrasi 100.000 ppm, 200.000 ppm, 300.000 ppm, 400.000 ppm dan 500.000 ppm, serta uji kualitatif dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.).

2. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah zona hambat yang dihasilkan oleh pelarut yang digunakan dan konsentrasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) pada media Mueller Hinton Agar yang akan dinyatakan dalam satuan milimeter.

3. Variabel kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah adanya kontaminasi dari bakteri lain, sterilisasi alat, suhu dan waktu inkubasi, karakteristik sampel.

4. Definsi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. Ekstrak daun *Ocimum sanctum* L

Ekstrak daun *Ocimum sanctum* adalah ekstrak yang diperoleh dari daun *Ocimum sanctum* L yang dikeringkan dan dihaluskan kemudian diekstraksi dengan metode perkolasi dengan pelarut etanol 70% dan etanol 96% yang kemudian dievaporasi dan didapatkan ekstrak dengan konsentrasi 100%.

Skala Ukur : Nominal

b. Konsentrasi ekstrak etanol daun *Ocimum sanctum*

Konsentrasi ekstrak etanol daun *Ocimum sanctum* L adalah variasi komposisi campuran ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun *Ocimum sanctum* L yang berkonsentrasi 100%. Kemudian dibuat seri konsentrasi dengan mengencerkan ekstrak etanol 70%

dan etanol 96% daun *Ocimum sanctum* L dengan aquades menjadi konsentrasi konsentrasi 100.000 ppm, 200.000 ppm, 300.000 ppm, 400.000 ppm dan 500.000 ppm

Skala Ukur : Rasio

c. Zona hambat bakteri *Escherichia coli* ESBL

Diameter zona hambat bakteri yang menunjukkan adanya zona bening disekitar sumuran pada media MHA menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun *Ocimum sanctum* L terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichi coli* ESBL, yang kemudian akan diukur menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan milimeter.

Skala : Nominal

F. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu menggunakan cara *purposive sampling*, yaitu sampel daun *Ocimum sanctum* yang diperoleh sudah memiliki kriteria yang sudah dipertimbangkan oleh peneliti.

G. Sumber Data Penelitian

Sumber data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer, yakni : Mencari referensi dari jurnal maupun buku yang diperoleh dari penelitian yang sudah dilakukan oleh peneliti.

H. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian:

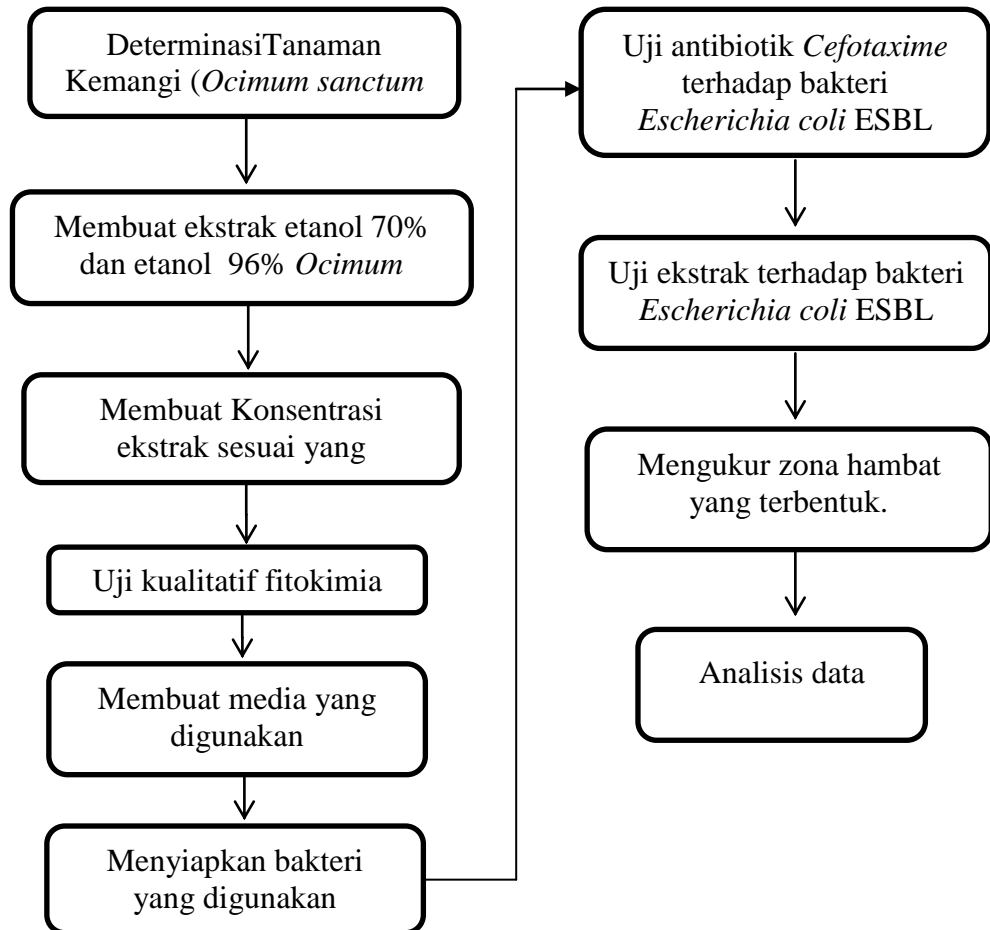
Alat yang digunakan didalam penelitian ini adalah : alat ekstraksi perkolasi, *rotary evaporator*, neraca analitik, blender, tabung reaksi, cawan petri, *becker glass*, inkubator, *autoclave*, kapas lidisteril, penggaris, jangka sorong, lampu, spirtus, laminar air flow, kompor, gelas ukur, pipet volume dan erlenmeyer.

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan didalam penelitian ini adalah daun kemangi (*Ocimum sanctum* L), bahan pelarut etanol 70% dan etanol 96%, control positif *ciprofloxacin* 5 mg, media MC (*Mac Conkey*), media MHA (*Mueller Hinton Agar*), media NA (*Nutrient Agar*), larutan NaCl 0,9 %, Mac Farland 0,5, isolat bakteri *Escherichia coli*, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), antibiotik *Cetazidine* 30 µg dan antibiotik *Cefotaxime* 30 µg.

I. Alur Penelitian

1. Bagan



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian

2. Cara Kerja

a. Persiapan sampel

Sampel daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) yang telah dikumpulkan dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari hingga kering. Selanjutnya simplisia yang sudah kering ditimbang dan diblender hingga halus, kemudian diayak dan dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode perkolasi sesuai dengan penelitian ini.

b. Pembuatan Ekstrak Daun *Ocimum sanctum* L

- 1) Serbuk daun *Ocimum sanctum* L direndam menggunakan pelarut etanol 70% atau etanol 96% di dalam alat perkolator dan ditutup rapat selama 24 jam.
- 2) Keran pada alat perkolator dibuka dan cairan dibiarkan menetes sesuai dengan kecepatan tertentu.
- 3) Ditambahkan pelarut etanol secara berulang agar serbuk simplisia selalu terendam.
- 4) Setelah penetesan ekstrak selesai kemudian ekstrak yang sudah jadi diuapkan pada alat *rotary evaporator*.

c. Uji Kualitatif Fitokimia

1) Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara dimasukkan 1 ml ekstrak kedalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes asam klorida (HCl) pekat dan serbuk magnesium (Mg) kemudian

dikocok. Hasil uji akan menunjukkan warna merah atau coklat jika positif terdapat flavonoid (Alamsyah, 2014).

2) Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara dimasukkan 2 ml ekstrak kedalam tabung reaksi dan ditambahkan aquadest panas kemudian dikocok kuat selama 10 menit dan didiamkan selama 1 – 3 menit. Kemudian diteteskan 2 tetes HCl 2N, jika terdapat saponin maka buih akan stabil (Alamsyah, 2014).

3) Tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak sebanyak 3 ml direaksikan dengan 3 tetes larutan FeCl_3 maka akan terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan jika terdapat kandungan tannin (Simaremare, 2014).

4) Alkaloid

Uji ini dilakukan dengan cara dimasukkan 2 ml ekstrak ditambahkan 3 tetes kloroform dan 2 tetes ammonia kemudian dipanaskan selama 2 menit dan disaring, selanjutnya dibagi menjadi 2 tabung dan ditetesi 1 tetes HCl 2N pada masing-masing tabung kemudian pada tabung pertama diteteskan pada kertas saring dan disemprotkan reagen dragendorf, pada tabung kedua ditetesi reagen dragendorf. Ekstrak yang mengandung alkaloid akan menunjukkan hasil terbentuknya warna merah atau jingga (Alamsyah, 2014).

d. Pembuatan larutan uji

Pembuatan larutan uji dengan menggunakan ekstrak yang telah didapatkan dari proses perkolasi, dilakukan pembuatan konsentrasi dengan masing-masing 100.000 ppm, 200.000 ppm, 300.000 ppm, 400.000 ppm, 500.000 ppm dengan larutan pengencer aquadest dengan perlakuan sebagai berikut:

- 1) Perlakuan 1, yaitu ekstrak 70% daun kemangi dengan konsentrasi 100.000 ppm : 100 mg ekstrak etanol 70% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
- 2) Perlakuan 2, yaitu ekstrak 70% daun kemangi dengan konsentrasi 200.000 ppm : 200 mg ekstrak etanol 70% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
- 3) Perlakuan 3, yaitu ekstrak 70% daun kemangi dengan konsentrasi 300.000 ppm : 300 mg ekstrak etanol 70% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
- 4) Perlakuan 4, yaitu ekstrak 70% daun kemangi dengan konsentrasi 400.000 ppm : 400 mg ekstrak etanol 70% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
- 5) Perlakuan 5, yaitu ekstrak 70% daun kemangi dengan konsentrasi 500.000 ppm : 500 mg ekstrak etanol 70% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
- 6) Kontrol positif : antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg.
- 7) Kontrol negatif : *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).

- 8) Perlakuan 6, yaitu ekstrak 96% daun kemangi dengan konsentrasi 100.000 ppm : 100 mg ekstrak etanol 96% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
 - 9) Perlakuan 7, yaitu ekstrak 96% daun kemangi dengan konsentrasi 200.000 ppm : 200 mg ekstrak etanol 96% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
 - 10) Perlakuan 8, yaitu ekstrak 96% daun kemangi dengan konsentrasi 300.000 ppm : 300 mg ekstrak etanol 96% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
 - 11) Perlakuan 9, yaitu ekstrak 96% daun kemangi dengan konsentrasi 400.000 ppm : 400 mg ekstrak etanol 96% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
 - 12) Perlakuan 10, yaitu ekstrak 96% daun kemangi dengan konsentrasi 500.000 ppm : 500 mg ekstrak etanol 96% dengan 1 ml *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
 - 13) Kontrol positif : antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg.
 - 14) Kontrol negatif : *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).
- e. Pembuatan Media

- 1) Media MHA

Timbang media MHA 3,4 gram dan dimasukkan kedalam erlenmeyer, lalu dilarutkan dalam aquadest 1 ml. Dipanaskan sampai mendidih dan diaduk. Masukkan alat kedalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15-20

menit. Kemudian media dimasukkan kedalam cawan petri steril dan didiamkan sampai memadat, selanjutnya dimasukkan dalam lemari es dengan suhu 4°C (Vanesa dkk, 2020).

2) Media NA

Timbang 2,4 gram Nutrien Agar ditambahkan 120 mL aquadest kemudian dipanaskan hingga larut dan cek pH 6,8 selanjutnyadisterilkan dengan autoclave suhu 121°C selama 15menit.

3) Media MC

Timbang media Mac Conkey (MC) sebanyak 50 gram dan dilarutkan dalam 1 liter aquadest kemudian dipanaskan hingga larut. Media disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, tunggu hingga hangatdan dituangkan kedalam cawan petri didiamkan hingga memadat.

4) NaCl 0,9%

Timbang sodium klorida sebanyak 0,9 gram dengan aquadst 100 ml, kemudian dilarutkan dengan aquadest dan disterilkan kedalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.

5) Pembuatan suspensi standard McFarland

Disiapkan larutan asam sulfat 1% sebanyak 99,5 ml dan larutan barium klorida 0,5 ml. Kemudian kedua larutan tersebut dicampur dalam tabung reaksi dihomogenkan hingga larut.

f. Persiapan Bakteri

Bakteri *Escherichia coli* murni dimasukkan kedalam tabung reaksi steril dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C. Kemudian bakteri tersebut diinokulasikan kedalam media *Mac Conkey* (MC) dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah koloni terbentuk dilakukan pengecatan gram untuk mengidentifikasi bahwa koloni tersebut adalah bakteri gram negatif batang. Jika sudah sesuai dilakukan penanaman kedalam media NA miring dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Kemudian bakteri yang sudah tumbuh dibuat suspensi dengan NaCl 0,9 % steril dan distandarisasi menggunakan suspensi standard Mc.Farland 0,5, selanjutnya bakteri dapat digunakan untuk uji antibakteri dengan bahan aktif yang akan digunakan (Afrani, 2011).

g. Uji Antibakteria

- 1) Disiapkan alat dan bahan yang bersih dan steril.
- 2) Disiapkan media MHA yang telah dibuat dan dimasukkan 100 µl suspensi bakteri *Escherichia coli* ESBL yang sudah

distandarisasi dengan standard Mc.Farland 0,5 dan diinokulasikan menggunakan kapas lidi steril secara aseptis.

- 3) Dibuat sumuran menggunakan *corkborer* dengan diameter 8mm.
- 4) Diberi label pada masing-masing sumuran dan diisi ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun kemangi sebanyak 100µl sesuai konsentrasi yang sudah ditentukan (100.000ppm, 200.000ppm, 300.000ppm, 400.000ppm, 500.000ppm).
- 5) Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dan diamati adanya zona hambat yang terbentuk, yakni dengan mengukur menggunakan penggaris atau jangka sorong pada zona bening disekitar sumuran.
- 6) Dilakukan pengumpulan data.

J. Teknik Analisis Data

Data daya hambat yang didapatkan dari penelitian perbandingan daya hambat ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun *Ocimum sanctum* L. terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL yang akan dinyatakan dalam satuan millimeter (mm) dan diolah menggunakan uji statistik. Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*, karena data yang didapatkan tidak berdistribusi normal.

BAB V

PENUTUP

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Adanya perbedaan signifikan antar variasi konsentrasi ekstrak etanol 70% dan 96% daun *Ocimum sanctum* L. yang mampu membentuk zona radikal pada *Escherichia coli* ESBL.
2. Pelarut etanol 70% daun *Ocimum sanctum* L. dengan konsentrasi 500.000 ppm memiliki daya hambat tertinggi dalam menghambat *Escherichia coli* ESBL dengan diameter rata-rata 7,375 mm dan pada pelarut etanol 96% daun *Ocimum sanctum* L. dengan konsentrasi 500.000 ppm memiliki daya hambat tertinggi dalam menghambat *Escherichia coli* ESBL dengan diameter rata-rata 7.25 mm.
3. Konsentrasi tertinggi ekstrak etanol 70% dan 96% daun *Ocimum sanctum* L memiliki kemampuan daya hambat yang tidak setara dengan kontrol positif *Ciprofloxacin* 5 µg dengan diameter rata-rata sebesar 7,375 pada ekstrak etanol 70% dan sebesar 7,25 mm pada ekstrak etanol 96%.

B. Saran

Bagi Peneliti selanjutnya

Peneliti menyarankan untuk peneliti selanjutnya agar dapat mengembangkan kembali tentang uji antibakteri daun *Ocimum sanctum* L terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL dengan menggunakan pelarut

ekstraksi yang lebih efektif dalam mengikat senyawa metabolit sekunder, dengan menambah pengulangan agar didapatkan hasil statistik yang mendekati normal, dan dengan meneliti kuantitas senyawa metabolit sekunder agar didapatkan senyawa metabolit sekunder pada yang paling berpotensi dalam menghambat bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, R. 2011, Aktivitas Antimikroba Madu dari Lebah *Apis dorsata* dan *Apis Mellifera* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak
- Alamsyah, H.K., Ita W., Agus S. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agaradh) Dari Perairan Pulau Panjang Jepara Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Journal Of Marine Research*.3 (2) : 69-78.
- Anderson, K.L., Whitlock, J.E., Harwood, V.J. 2005. Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *Appl. Environ Microbiol.* 71:3041-3048
- Andi, St., Fahirah, A., Nurhaedar, J., Arman. 2018. Deteksi dan Pola Kepekaan Antibiotik pada *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) *Escherichia coli* dari Sampel Urin Petugas Kesehatan di Rumah Sakit Ibnu Sina Makassar Tahun 2018. Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia.
- Angelina, M., Masnur, T., dan Siti, K. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont* 4.1
- Anugrahani, A.Y. 2014. Prevalensi *Escherichia coli* Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Pada Spesimen Urin di Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUP Sanglah. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Udayana Denpasar
- 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.
- Deresse, D dan Awade, M. 2009. Assessment of the Antibacterial Effect of Crude Preparation of Garlic (*Alliumsativa*) on Diarrhea causing Bacteria, An In Vitro Study. *Asian Journal of Medical Sciences.* 1, 1, 12–14.
- Gyles, C.L, 1983. *Escherichia coli*. Dalam Pathogenesis of Bacterial Infection in Animal. Gyles, C. L. and. Thoen, C. O (eds). Second Edition. Ames : Iowa State University Press. Hal.164-187.
- Garrity, G.M., Bell, J.A. and Lilburn, T.G. 2004. *Taxonomic Outline of The Prokaryotex bergey's Manual of Systematic Bacteriolo.* 2th Edition. United States of America, Springer, New York Berlin Hendelberg.

- Hadipoenyanti, E dan Wahyuni, S. 2008. Keragaman Selasih (*Ocimum* spp.) Berdasarkan Karakter Morfologi, Produksi dan Mutu Herba. *Jurnal Littri Vol. 14. No. 4.*
- Irianto, K. 2006, *Mikrobiologi, Menguk Dunia Mikroorganisme* Jilid 2, CV. Yrama Widya. Bandung
- Kadarohman, A., Gebi, D., Yuni, A., dan Lela, L.K. 2011. Komposisi Kimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Kemangi (*Ocimum Americanum* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*, *Shigellasonnei*, Dan *Salmonella enteritidis*. Bandung. *Berk. Penel. Hayati*:16 (101–110)
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L.T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Not Rev Microbiol.* 2: 123-140
- Kepel, L., Fatimawali., dan Budiarmo, F. 2015. Uji Resistensi Bakteri *Escherichia coli* Yang Diisolasi Dari Plak Gigi Terhadap Merkuri Dan Antibiotik Siprofloksacin. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. Vol 3. No 1
- Kusuma, Weda, 2010. Ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) terhadap kerusakan hepatosit mencit akibat minyak sawit dengan pemanasan berulang. *Skripsi*. Surakarta. Fakultas kedokteran Usniversitas Sebelas Maret.
- Lemmens, 2000. *Plant Resources of South East Asia, Dye and Tannin-Producing Plants*. Bogor. Prosea. 22-27
- Nila, F.O. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Aquous* Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Isolat Bakteri *Escherichia coli* dari Pasien Diare di Rumah Sakit Muhammadiyah Palembang. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang.
- Nurchayanti, A.D.R., dan K.H. Timotius. 2011. Aktivitas Antioksidan Antibakteri Ekstrak Polar dan Non Polar Biji Selasih (*Ocimum sanctum* L.). *Teknologi dan Industri Pangan*, 22(1)
- Pajariu, A. 2010. *Infeksi Oleh Bakteri Penghasil Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Pelczar, Michael J and Chan, E.C.S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan oleh Hadioetomo, Ratna sari dkk. Universitas Indonesia : Jakarta
- Sarah, S.M., dan Lamia, A.M. 2015. Estimation of the photochemical constituents and biological activity of Iraqi *Ocimum sanctum* L. extracts. *Int J Pharm Bio Sci*; 6(1): (B) 999 – 1007

- Sari, N. 2018. Perbandingan Efektivitas *Chitosan* Pada Cangkang Rajungan Dengan Antibiotik Ciprofloxacin Terhadap Perkembangan Bakteri *Escherichia coli*. *Skripsi*. Medan. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
- Savira, I. 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) terhadap Penurunan Kadar SGPT Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Parasetamol. *Skripsi*. Surakarta. Universitas Sebelas Maret.
- Septia, W., Mauritz, P.M. 2020. Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca Miers*) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia, Volume 3 Nomor 2*. Universitas Kader Bangsa Palembang.
- Simaremare, E.S.A., Ruban, M., Nainggolan, C., Yenusi, G., Wabiser, E., Gunawan. 2014. *Formulasi dan evaluasi daun gatal (Laportea decumana (Roxb.)Wedd) sebagai kandidat antinyeri*. Tanaman Obat Indonesia.
- 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*; 4 (2): 97-104
- Sudarsono., Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I.A., dan Purnomo. 2002, *TumbuhanObat II (HasilPenelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaannya)*. Yogyakarta. Pusat Studi Obat Tradisional Universitas GadjahMada.
- Sumaprow., Jufri, O. 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Balita Kota Manado. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*.
- Yasni, S. 2013. *Teknologi Pengolahan dan Pemanfaatan Produk Ekstraktif Rempah*. Bogor. PT Penerbit IPB Press.