

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Identifikasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan sampel serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti. Berdasarkan hasil identifikasi tanaman dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan jeruk purut (*Citrus hystrix* DC). Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1 dan lampiran 2.

2. Pengambilan Bahan

Tanaman yang digunakan adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dalam penelitian ini daun kemangi diperoleh dari Klaten, Jawa Tengah, pada bulan Januari 2019. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi dari percobaan didapat rendemen minyak atsiri.

Tabel 1. Kadar minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut

Sampel	Bobot sampel	Volume minyak	Kadar (%)
Daun kemangi	16000	20	0,125%
Daun jeruk purut	3160	20	0,633 %

Penelitian Ardiana Dewi (2017) membuktikan bahwa minyak atsiri kemangi mempunyai komponen utama yaitu linalool, rendemen yang dihasilkan sekitar 0,11% v/b . Komponen minyak dalam daun jeruk purut yang diperoleh dengan menggunakan destilasi 0,68% v/b dengan kandungan senyawa miristin,

hidrokarbon terpen, dan turunan fenilpropan (Warsito 2013). Kadar minyak atsiri daun kemangi yang diperoleh dalam praktek dengan hasil rendemen adalah 0,125% v/b . Sedangkan kadar minyak daun jeruk purut dalam praktek yang didapat dengan hasil rendemen adalah 0,633% v/b . Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada lampiran 2.

4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri.

Hasil uji organoleptis dapat dilihat dengan pengamatan secara visual dan panca indra meliputi hidung, mata, dan lidah. Hasil pengamatan organoleptis pada minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak daun kemangi

No.	Jenis Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning	Kuning muda-coklat muda (Depkes 2006)
2.	Bau	Aroma khas kemangi	Khas kemangi (Depkes 2006)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 1979)
4.	Rasa	Manis, seperti rempah	Alfrida 2013

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak daun jeruk purut

No.	Jenis Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning muda	Kuning muda (Sait dan Lubis 1991)
2.	Bau	Aroma khas jeruk purut	Khas jeruk purut (Sait dan Lubis 1991)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Sait dan Lubis 1991)
4.	Rasa	Khas jeruk purut	Khas jeruk namun lebih kuat dan segar (Pudil <i>et al</i> 1998)

Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel di ambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah vial yang bersih dan bening, kemudian di bandingkan dengan pustaka. Bau dan rasa minyak atsiri pada masing-masing sampel memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman

4.1 Identifikasi minyak atsiri. Hasil identifikasi daun kemangi dan daun jeruk purut seperti yang terlampir dalam penelitian dapat di lihat pada table 4 dan 5.

Tabel 4. Hasil identifikasi minyak atsiri daun kemangi

No.	Jenis Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Satu tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
2.	Satu tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Tabel 5. Hasil identifikasi minyak atsiri daun jeruk

No.	Jenis Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Satu tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
2.	Satu tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, bila satu tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh, jika ditetaskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

4.2 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil indeks bias minyak atsiri

No.	Minyak atsiri	Hasil indeks bias	Pustaka
1.	Daun kemangi	1,484	Indeks bias (20°) 1,426-1,506 (Depkes, 1979)
2.	Daun jeruk purut	1,455	Indeks bias (20°) 1,466-1,516 (Widodo, 2005)

Indeks bias minyak atsiri daun kemangi sebesar 1,484 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka pada minyak atsiri kemangi yaitu 1,426 - 1,506. Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut diperoleh 1,455 yang menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti mendekati dengan pustaka pada minyak daun jeruk purut yaitu 1,466-1,516. Indeks bias menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono et al 2000). Dapat di lihat pada lampiran 7

4.3 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri kemangi dan daun jeruk purut pada penelitian dapat dilihat pada tabel 7 dan 8.

Tabel 7. Hasil penetapan bobot pikno + air

Percobaan	Bobot jenis minyak
I.	22,343
II.	22,341
III.	22,341

Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I.	0,9194	Bobot jenis minyak atsiri (20° C) 0,9100-0,9500 (Depkes 1979)
II.	0,9200	
III.	0,9200	
Rata-rata	0,9198	

Tabel 9. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I.	0,8640	Bobot jenis minyak atsiri (20° C) 0,8223-0,8699 (Widodo, 2005)
II.	0,8645	
III.	0,8645	
Rata-rata	0,8643	

Hasil bobot jenis minyak atsiri kemangi menurut hasil penelitian adalah 0,9198 dan bobot jenis minyak atsiri pada daun jeruk purut adalah 0,8643. Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri kemangi pada suhu 20°C adalah 0,910-0,950 dan pada daun jeruk purut adalah 0,8223-0,8699. Menurut pustaka berat jenis (densitas) pada penelitian ini sudah memenuhi karakteristik standar mutu minyak atsiri. Bobot jenis merupakan salah satu kriteria yang penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurnian juga semakin rendah. Besarnya nilai bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak atsiri, maka semakin banyak komponen kimia dalam minyak atsiri dengan begitu semakin tinggi pula bobot jenisnya (Wiyono et al 2000). Lebih lengkap dapat dilihat pada lampiran 13 dan lampiran 14.

4.4 Penetapan kelarutan dalam alkohol 70%. Kelarutan dalam alkohol merupakan nilai perbandingan banyaknya minyak atsiri yang larut sempurna

dengan pelarut alkohol, setiap minyak atsiri mempunyai nilai kelarutan dalam alkohol yang spesifik sehingga dapat berfungsi untuk menentukan suatu kemurnian minyak atsiri. Hasil kelarutan minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dalam alkohol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri larut dalam 1 ml alkohol 70%) menurut hasil penelitian adalah minyak atsiri kemangi larut dalam alkohol tetapi tidak jernih dan minyak atsiri daun jeruk purut larut dan jernih. Hasil gambar kelarutan dapat dilihat pada lampiran 6.

4.5 Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Uji analisis dengan GC-MS dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung didalam minyak atsiri. Analisis komponen senyawa minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil analisis masing-masing komponen senyawa utama daun kemangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada tabel 10 dan tabel 11.

Tabel 10. Hasil identifikasi komponen senyawa minyak atsiri daun kemangi

No	Waktu retensi (menit)	% Luas area	BM	Nama senyawa
1	7.338	35.71	154	Linalool
2	8.067	7.37	152	TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI-
3	8.284	10.63	152	TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI-
4	10.321	1.49	172	CIS 3 HEXENYL LACTATE
5	10.545	1.59	150	3,5-Heptadienal,n2-ethylidene-6-methyl-(cas)
6	10.827	12.24	204	Trans-Caryophyllene
7	10.893	5.43	204	.alpha.-Bergamotene
8	11.068	3.75	204	.alpha.-Humulene
9	11.260	9.20	204	GERMACRENE-D
10	11.619	12.59	204	.alpha.-Humulene

Tabel 11. Hasil identifikasi komponen senyawa minyak atsiri daun jeruk purut

No	Waktu retensi (menit)	% Luas area	BM	Nama senyawa
1	7.953	34.23	154	CITRONELLA
2	8.080	9.86	154	CITRONELLA
3	8.974	21.95	156	.beta.-Citronellol
4	10.081	17.59	198	Citronellyl acetate
5	10.280	4.37	196	NERYL ACETATE
6	11.650	2.10	222	Elemol
7	11.696	1.64	222	Nerolidol
8	12.476	2.15	218	LONGIVERBENON (VULGARON B)
9	12.555	0.89	218	LONGIVERBENON (VULGARON B)
10	12.629	5.22	218	2(3H)-NAPHTHALENONE, 4,4A,5,6,7,8-HEXAHYDRO-4A,5-DIME

Hasil analisis minyak atsiri daun kemangi terdapat 10 senyawa sedangkan minyak atsiri daun jeruk purut juga memiliki 10 senyawa. Berdasarkan pustaka (Lestarie N 2014) komponen senyawa yang terkandung pada minyak atsiri daun kemangi yaitu Z-Sitrat, Verbenol, Alpha-Humulene, Linalool, Trans-Caryophyllene, Benzofuran, Bicyclo[3.1.1]heptene, 6-Methyl-5-Hepten-2-one, d-Nerolidol. Pada komponen minyak atsiri daun jeruk purut dengan senyawa sitronelal, sitronelol, linalool, geraniol (Koswara, 2009). Komponen minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada lampiran 20.

Hasil analisis komponen kimia minyak atsiri daun kemangi dianalisis dengan GCMS adalah Linalool (35,71%), TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI (7,37%), TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI- (10,63%), CIS 3 HEXENYL LACTATE (1,49%), 3,5-Heptadienal,n2-ethylidene-6-methyl-(CAS)(1,59%), Trans-Caryophyllene (12,59%), .alpha.-Bergamotene (5,43%), .alpha.-Humulene (3,75%) GERMACRENE-D (9,20%), .alpha.-Humulene (12,59%). Komponen senyawa minyak atsiri daun jeruk purut dengan GCMS menunjukkan komponen senyawa kimia CITRONELLA (34,23%), CITRONELLA (9,86%), .beta.-Citronellool (21,95%), Citronellyl acetate (17,59%), NERYL ACETATE (4,37%), Elemol (2,10%), Nerolidol (1,64%), LONGIVERBENON (VULGARON B) (2,15%), LONGIVERBENON (VULGARON B) (0,89%), 2(3H)-NAPHTHALENONE, 4,4A,5,6,7,8-HEXAHYDRO-4A,5-DIME (5,22%).

5. Hasil identifikasi bakteri uji

5.1 Identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Bakteri uji *Escherichia coli* diinokulasi pada media diferensial *Endo Agar* (EA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Tujuan dari inokulasi ini yaitu untuk membunuh bakteri lain yang diambil dari sediaan murni. Berdasarkan pengamatan koloni yang dihasilkan berwarna merah dan kilat logam yang permanen. Warna koloni merah disebabkan bakteri *Escherichia coli* bereaksi dengan fuchsin Kristal sehingga fuchsin tersebut diserap. Gambar hasil identifikasi secara makroskopis dapat dilihat pada lampiran 10.

5.2 Identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri uji *Escherichia coli* tersebut termasuk dalam golongan bakteri gram negatif. Berdasarkan hasil identifikasi mikroskopis bakteri *Escherichia coli* golongan Gram negatif. Penetasan kristal violet (Gram A) di atas preparat menyebabkan Kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri. Penetasan larutan Mordant (lugol iodine/Gram B) menyebabkan adanya ikatan Kristal violet dengan iodine yang akan meeninggalkan afinitas pengikatan zat warna oleh bakteri. Penetasan alkohol (Gram C) menyebabkan pori-pori pada Gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga kompleks kristal violet tidak menempel pada dinding sel bakteri, menyebabkan Gram negatif menjadi bening. Penetasan safranin (Gram D) akan mewarnai sel Gram negatif menjadi warna merah. Gambar hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada lampiran 10.

5.3 Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara biokimia. Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara untuk mengidentifikasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya. Bakteri ditanam dalam media SIM, KIA, LIA, dan Sitrat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji biokimia pada bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 12 dan gambar hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 12. Hasil uji identifikasi biokimia pada bakteri *Escherichia coli*

Pengujian	Hasil	Pustaka
SIM	-++	-++
KIA	A/AGS (-)	A/AGS (-)
LIA	K/KS (-)	K/KS (-)
Sitrat	-	-

Keterangan:

SIM : *Sulfida Indol Motility*

A : Acid (kuning)

KIA : *Klinger's Iron Agar*

K : Alkali (merah atau ungu)

LIA : *Lysin Iron Agar*

S : Sulfida (hitam)

(+) : Reaksi Postitif

G : Gas

(-) : Reaksi Negatif

Medium *Sulfida Indol Motility* (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pada pengujian SIM menunjukkan bahwa hasil sulfida

negativ (-), artinya *Escherichia coli* tidak dapat mereduksi thiosulfate sehingga tidak menghasilkan hidrogen sulfida yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media. Hasil indol positif setelah ditambahkan tiga tetes reagen erlich A dan erlich B dengan terbentuknya warna merah muda pada permukaan yang artinya bakteri *Escherichia coli* membentuk indol dari tryptopan sebagai sumber karbon. Tryptopan merupakan suatu asam amino esensial yang mengalami reaksi oksidasi dengan cara kegiatan enzimatik bakteri. Uji motilitas diperoleh hasil positif, ditunjukkan dengan adanya penyebaran pertumbuhan *Escherichia coli*.

Medium Klinger's Iron Agar (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Hasil yang diperoleh yaitu A/AGS (-), A/A artinya pada lereng dan dasar media berwarna kuning yang menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* mampu memfermentasi glukosa dan laktosa. Medium Klinger's Iron Agar (KIA) mengandung laktosa 1% dan glukosa 0,1% dan *phenol red* sebagai indikator. Perubahan warna media menjadi kuning disebabkan oleh aktivitas fermentasi bakteri yang mengubah pH media menjadi asam dimana indikator pada media adalah *phenol red* (dalam suasana asam). G artinya terdapat gas sehingga menyebabkan media terangkat, S (-) artinya uji hidrogen sulfida (H_2S) negative ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media KIA karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H_2S dan H_2S akan bereaksi dengan Fe^{++} yang terdapat pada media KIA sehingga tidak terbentuk warna hitam antara dasar dan lereng.

Medium lysine Iron Agar (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian bakteri *Escherichia coli* pada media LIA menunjukkan hasil K/KS(-), K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media. S(-) artinya uji H_2S negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA.

Medium sitrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian bakteri *Escherichia coli* pada media sitrat menunjukkan hasil negatif sehingga warna media tetap hijau. Hal ini menunjukkan bahwa *Escherichia coli* tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal, dalam medium sitrat terdapat indikator BTB (*Bromo Thymol Blue*) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan sitrat menyebabkan suasana asam dan basa akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari warna hijau menjadi biru. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini *Escherichia coli* ATCC 25922.

6. Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan suspensi bakteri uji yaitu dengan pengambilan bakteri dari biakan murni pada *Nutrien Agar* (NA) diambil satu sampai dua ose kemudian dimasukan kedalam tabung yang telah diisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dengan pengenceran 1:1000, kemudian setelah itu di inkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam, kemudian kekeruhan disesuaikan dengan standart Mc Farland 0,5. Tujuan distandarkannya dengan Mc Farland 0,5 yaitu untuk mengetahui berapa kisaran jumlah koloni bakteri yang terdapat pada suspensi bakteri, bila tidak distandarkan dengan Mc Farland 0,5 dimungkinkan bakteri yang terdapat dalam suspensi tersebut terlalu banyak atau terlalu sedikit sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian.

7. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut secara difusi

Metode difusi ini dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dengan konsentrasi 2% dan 4%, pada perbandingan 1:1, 1:2, 2:1 dan tunggal minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut menggunakan cakram disk, dengan kontrol positif ciprofloxacin digunakan untuk daya antibakteri.

Medium MHA yang digunakan 1 cawan petri berisi 50 ml, yang digunakan dalam penelitian ini 2 cawan petri, cawan pertama dengan konsentrasi 2% dan cawan kedua dengan konsentrasi 4% masing-masing berisi kombinasi dan tunggal

dari daun kemangi dan daun jeruk purut serta control positif ciprofloxacin. Masa inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Uji ini dilakukan tiga kali replikasi. Hasil diameter hambat dari uji difusi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut secara tunggal dan kombinasi dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil uji difusi pada *Escherichia coli* ATCC 25922

Sampel (minyak atsiri)	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) ±SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Daun kemangi	2%	11,5	8,4	12,6	10,83 ±1,778264
Daun jeruk purut tunggal	2%	6	7	7,5	6,83 ± 0,62361
1:1	2%	15,25	11	8,75	11,67 ± 2,69516
1:2	2%	15	10,75	9,5	11,75 ± 2,354074
2:1	2%	16	8,25	9,75	11,33 ± 3,356172
Kontrol +		23,75	27,5	26,5	25,92 ± 1,585525
Kontrol -		0	0	0	0
Daun kemangi	4%	11,5	15,25	13	13,25 ±1,541104
Daun jeruk purut	4%	7	12	6,75	8,58 ± 2,418103
1:1	4%	19,5	12	12	14,5 ± 3,535534
1:2	4%	20	12,25	14,25	15,5 ± 2,875
2:1	4%	17	12,5	13,25	14,25 ± 1,968502
Kontrol +		26	26,5	29	27,167 ± 1,312335
Kontrol -		0	0	0	0

Hasil uji difusi dari konsentrasi 2% dan 4% tunggal maupun kombinasi (1:1;1:2;2:1) memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Daya hambat paling besar adalah pada kontrol positif ciprofloxacin dengan diameter hambatnya adalah 27,167 mm. Daya hambat paling besar pada minyak atsiri kombinasi adalah pada perbandingan 1:2 dengan konsentrasi 4% yang diameter daya hambatnya adalah 15,5 mm. Uji difusi dilakukan untuk mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Berdasarkan data yang diperoleh dapat dilakukan analisis statistik, untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel minyak atsiri tunggal dan kombinasi yang diteliti. Hasil analisa statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara tunggal daun kemangi, tunggal daun jeruk purut, kontrol positif (ciprofloxacin) dan kombinasi (1:1,1:2,2;1). Daya hambat minyak atsiri

kombinasi mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal daun kemangi, tunggal daun jeruk purut, kontrol positif, dan kombinasi (1:1;1:2;2:1). Analisa hasil SPSS test homogenitas dengan diameter hambat minyak atsiri signifikan 0,138 yang berarti $0,138 > 0,05$ hasil test homogenitas signifikan.

Pada uji ANOVA dua jalan dengan demikian dapat disimpulkan bahwa adanya perbedaan daya hambat yang nyata pada sampel tunggal minyak atsiri kemangi dengan hasil tunggal minyak atsiri daun jeruk purut. Daya hambat kontrol positif mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal daun kemangi, tunggal daun jeruk dan kombinasi (1:1,1:2,2:1) pada uji ANOVA two-way. Berdasarkan hasil rata-rata diameter daya hambat pada kombinasi yang lebih besar yaitu pada kombinasi dengan perbandingan 1:2 dibandingkan dengan kombinasi 1:1; 1:2 .

Hasil uji tunggal pada konsentrasi 4% daun kemangi 13,25 dan daun jeruk purut 8,583 daya hambat pada tunggal daun kemangi lebih besar dari tunggal daun jeruk purut dibuktikan pada hasil GCMS senyawa tertinggi pada minyak atsiri daun kemangi Linalool (37,71%) dan jeruk purut Citronella (34,23%) masing-masing kandungan senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas bakterisida. Aktivitas antibakteri minyak atsiri diduga disebabkan adanya senyawa antimikroba pada minyak atsiri daun kemangi linalool dan daun jeruk purut Citronella. Mekanisme kerja minyak atsiri dalam menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yaitu dengan cara meganggu proses terbentuknya membran dan dinding sel, membrane dan dinding sel tidak terbentuk (Ajizah, 2004). Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 19.