

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil identifikasi tanaman kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)

Tahap awal penelitian ini adalah determinasi tanaman kemangi dan tanaman jeruk purut yang dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta. Determinasi bertujuan untuk menetapkan keberadaan yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang dilakukan secara makroskopi tanaman kemangi dan tanaman jeruk purut terhadap kepustakaan yang dibuktikan dilaboratorium.

Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.). Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pembuatan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)

2.1 Pengumpulan bahan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi dan daun jeruk purut yang diambil secara acak di desa Kebon Alas, Kecamatan Manisrenggo, Kabupaten Klaten, Provinsi Jawa Tengah pada bulan Januari 2019. Pengambilan sampel daun dilakukan pada pagi hari karena pada saat itu tanaman belum melakukan proses fotosintesis sehingga diharapkan dapat diperoleh minyak atsiri yang maksimal dari sampel tersebut.

2.2 Isolasi minyak atsiri. Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dilakukan dengan metode destilasi uap dan air. Data rendemen minyak atsiri dapat dilihat pada tabel 1.

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

Bahan	Berat sampel basah (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (% $\frac{v}{b}$)
Daun kemangi	16.000	20	0,125
Daun jeruk purut	3.160	20	0,633

Data rendemen minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut berturut-turut adalah 0,125% v/b dan 0,633% v/b . Penelitian yang dilakukan oleh Ardiana Dewi (2017) menunjukkan rendemen minyak atsiri yang dihasilkan oleh daun kemangi adalah sebesar 0,11% v/b , kemudian pada penelitian yang dilakukan oleh Warsito (2013) menunjukkan rendemen minyak atsiri yang dihasilkan oleh daun jeruk purut adalah sebesar 0,68% v/b . Hal tersebut menunjukkan bahwa range rendemen yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya. Data perhitungan persen rendemen minyak atsiri dapat dilihat pada lampiran 14.

3. Pengamatan organoleptik minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut

Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Data hasil uji organoleptik minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C)

No	Jenis pemeriksaan	Hasil	
		Daun kemangi	Daun jeruk purut
1	Warna	Kuning	Kuning muda
2	Bau	Khas	Khas
3	Bentuk	Cairan	Cairan
4	Rasa	Pahit	Pahit

Berdasarkan hasil uji organoleptik yang telah dilakukan, minyak atsiri daun kemangi dimasukkan secukupnya ke dalam vial sehingga dapat terlihat minyak daun kemangi yang berupa cairan dan berwarna kuning, bau mirip tanaman asal, dan berasa pahit. Minyak atsiri daun jeruk purut dimasukkan secukupnya ke dalam vial sehingga dapat terlihat minyak daun jeruk purut yang berupa cairan dan berwarna kuning muda, bau mirip tanaman asal, dan berasa pahit. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada lampiran 5.

4. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)

Tabel 3. Data hasil identifikasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan bekas noda lemak	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004).
	1 tetes minyak atsiri yang telah dicampur sudan II ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri tersebar merata dipermukaan air dan tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979).

Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai dengan pustaka, bila 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar di permukaan air dan tidak menimbulkan kekeruhan (Depkes 1979). Minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring, maka minyak akan menguap dan tidak meninggalkan bekas noda (Gunawan dan Mulyani 2004). Hasil identifikasi minyak atsiri dapat dilihat pada lampiran 5.

5. Penetapan indeks bias minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)

Tabel 4. Data hasil penetapan indeks bias minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut.

Sampel	Hasil indeks bias
Minyak atsiri daun kemangi	1,484
Minyak atsiri daun jeruk purut	1,453

Penetapan indeks bias minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan alat refraktometer dengan cara meneteskan minyak pada prisma kemudian dilihat skala yang terbentuk. Nilai pada refraktometer menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya, putaran optik menunjukkan besar sudut putaran bidang polarisasi yang terjadi jika sinar terpolarisasi dilewatkan melalui cairan pada suhu (-5°C) sampai dengan 0°C (Guenter 1990). Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa indeks bias pada minyak atsiri daun

kemangi dan daun jeruk purut secara berturut-turut adalah 1,484 dan 1,453. Indeks bias adalah perbandingan antara kecepatan cahaya dalam ruang hampa udara dibandingkan dengan kecepatan cahaya pada suatu medium. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi 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 dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al.* 2000). Hasil penetapan indeks bias dapat dilihat pada lampiran 6.

6. Penetapan Bobot Jenis minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)

Tabel 5. Data hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.)

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,9194	Bobot jenis minyak atsiri (20°C) 0,9100-0,9500 (Depkes 1979)
II	0,9166	
III	0,9197	
Rata-rata	0,9185	

Tabel 6. Data hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,8645	Bobot jenis minyak atsiri (20°C) 0,8223-0,8699 (Widodo 2005)
II	0,8646	
III	0,8645	
Rata-rata	0,8645	

Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut secara berturut-turut adalah 0,9158 dan 0,8645, data hasil yang didapat menunjukkan bahwa bobot jenis minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut masuk dalam range bobot jenis minyak menurut literatur yang ada. Kemurnian minyak atsiri juga tergantung pada bobot jenisnya. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Jenis dan jumlah komponen yang terkandung dalam suatu minyak atsiri mempengaruhi besar bobot minyak tersebut, semakin banyak komponen kimia yang terkandung

dalam suatu minyak atsiri maka semakin tinggi pula bobot jenisnya (Wiyono *et al.* 2000). Data perhitungan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada lampiran 15.

7. Penetapan kelarutan minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri daun jeruk purut dalam etanol

Penetapan kelarutan minyak atsiri dalam etanol merupakan nilai penetapan perbandingan banyaknya minyak atsiri yang larut dalam etanol.

Tabel 7. Data hasil penetapan kelarutan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) dalam etanol.

Sampel	Kelarutan dalam etanol
Minyak atsiri daun kemangi	Larut
Minyak atsiri daun jeruk purut	Larut

Kelarutan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) dalam etanol 70% adalah dengan perbandingan 1:1 (1 ml minyak atsiri dalam 1 ml etanol 70%), hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri daun kemangi larut dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1 tetapi tidak jernih. Sedangkan minyak atsiri daun jeruk purut larut dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:3. Gambar kelarutan minyak atsiri dalam etanol dapat dilihat pada lampiran 7.

8. Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan GC-MS

Analisis komponen senyawa dengan GC-MS dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung dalam suatu minyak atsiri menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil analisis masing-masing komponen senyawa minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) dapat dilihat pada tabel 7 dan tabel 8.

Tabel 8. Hasil identifikasi komponen senyawa minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.)

No	Waktu retensi (menit)	% luas area	Nama senyawa	BM	% kemiripan dengan library
1	7.338	35.71	Linalool	154	95
2	8.067	7.37	TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI-	152	88
3	8.284	10.63	TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI-	152	90
4	10.321	1.49	CIS 3 HEXENYL LACTATE	172	93
5	10.545	1.59	3,5-Heptadienal,n2-ethylidene-6-methyl-(cas)	150	85
6	10.827	12.24	Trans-Caryophyllene	204	96
7	10.893	5.43	.alpha.-Bergamotene	204	95
8	11.068	3.75	.alpha.-Humulene	204	98
9	11.260	9.20	GERMACRENE-D	204	95
10	11.619	12.59	.alpha.-Humulene	204	91

Tabel 9. Hasil identifikasi komponen senyawa minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)

No	Waktu retensi (menit)	% luas area	Nama senyawa	BM	% kemiripan dengan library
1	7.953	34.23	CITRONELLA	154	95
2	8.080	9.86	CITRONELLA	154	97
3	8.974	21.95	.beta.-Citronellol	156	97
4	10.081	17.59	Citronellyl acetate	198	94
5	10.280	4.37	NERYL ACETATE	196	96
6	11.650	2.10	Elemol	222	93
7	11.696	1.64	Nerolidol	222	98
8	12.476	2.15	LONGIVERBENON (VULGARON B)	218	84
9	12.555	0.89	LONGIVERBENON (VULGARON B)	218	85
10	12.629	5.22	2(3H)-NAPHTHALENONE, 4,4A,5,6,7,8-HEXAHYDRO-4A,5-DIME	218	86

Hasil analisis minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut masing-masing terdapat 10 peak yang muncul pada analisis GC hal tersebut berarti terdapat 10 komponen senyawa pada minyak atsiri daun kemangi dan minyak

atsiri daun jeruk purut. Peak yang muncul kemudian dilihat persentase kemiripannya dengan library yang ada pada hasil analisis MS, nama senyawa yang muncul dapat diketahui dengan melihat persen kemiripan yang paling tinggi. Senyawa kimia paling dominan yang terdapat pada daun kemangi adalah linalool dengan % luas area sebesar 35.71%. Kandungan linalool dalam minyak atsiri daun kemangi tersebut berpotensi sebagai antibakteri dan termasuk golongan turunan senyawa fenol yang bekerja merusak membran sel.

Senyawa kimia yang paling dominan yang terdapat pada daun jeruk purut adalah *Citronella* dengan % luas area sebesar 34.23%. Senyawa tersebut memiliki mekanisme antibakteri dengan merusak struktur dinding sel, mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton di dalam membran dinding sel. Kandungan senyawa yang bersifat antibakteri pada kedua tanaman tersebut memungkinkan minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri daun jeruk purut memiliki efek penghambatan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

9. Pembuatan suspensi bakteri uji

Media BHI dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 10 ml, kemudian diberi biakan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 murni kurang lebih 2-3 ose dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri yang telah terbentuk kemudian kekeruhannya disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 CFU/ml. Standar Mc Farland 0,5 CFU/ml ini setara dengan $<300 \times 10^6$ /ml jumlah bakteri dalam suatu suspensi bakteri (Haris dkk 2013). Penyesuaian suspensi bakteri dengan standar Mc Farland berfungsi agar jumlah bakteri yang digunakan tetap sama selama penelitian. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada lampiran 9.

10. Identifikasi mikroskopis secara morfologi bakteri *Streptococcus mutans*

Identifikasi mikroskopis secara morfologi pada bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan dengan pewarnaan Gram kemudian dilihat pada mikroskop dengan perbesaran kuat (100 x). Pewarnaan Gram bertujuan untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas dari bakteri dengan zat warna,

serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya (Pelezar dan Chan, 1986). Hasil pengamatan membuktikan bahwa bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram positif ditunjukkan dengan preparat ulas yang tetap berwarna ungu dengan bakteri berbentuk bulat dan membentuk rantai ketika dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Bakteri Gram positif (*Streptococcus mutans* ATCC 25175) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal daripada bakteri Gram negatif, sehingga pada saat pewarnaan Gram, bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dapat mempertahankan warna ungu dari Gram A (kristal violet). Gambar hasil identifikasi mikroskopis secara morfologi bakteri *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada lampiran 10.

11. Identifikasi bakteri *Streptococcus mutans* secara biokimia

Uji biokimia dilakukan dengan cara mengambil bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dari kultur murni kemudian ditusukkan pada media MSA (*Manitol Salt Agar*) dan dikultur pada media agar darah. Hasil pengujian menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri yang berwarna putih dengan perubahan warna pada media MSA menjadi kuning, perubahan warna ini disebabkan oleh adanya fermentasi manitol oleh bakteri yang menyebabkan perubahan *phenol red* pada media *Manitol Salt Agar* yang berubah dari merah menjadi kuning. Koloni bakteri pada media MSA kemudian dikultur pada media agar darah. Hasil penelitian adalah positif *Streptococcus mutans*, hal tersebut ditunjukkan dengan adanya hemolisis pada sel darah merah. *Streptococcus mutans* mempunyai tipe α -hemolitik yaitu melisis sel darah merah secara parsial akibat reduksi hemoglobin sehingga memperlihatkan warna kehijauan disekitar koloni (Radji 2011). Gambar uji biokimia bakteri *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada lampiran 10.

Uji katalase dilakukan dengan menambahkan pereaksi H_2O_2 3% ke dalam suspensi bakteri uji yang ditanam pada media BHI. Fungsi uji katalase pada bakteri berbentuk kokus adalah untuk membedakan antara *Streptococcus* dan *Staphylococcus*, dimana kelompok *Staphylococcus* bersifat katalase positif dan *Streptococcus* bersifat katalase negatif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2 . Hidrogen

peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay, 1994). Hasil pengujian menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 terjadi katalase negatif yang berarti tidak terbentuk gelembung udara ketika ditambahkan H₂O₂ 3%, hal tersebut disebabkan karena bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 tidak mempunyai enzim katalase. Hasil uji katalase dapat dilihat pada lampiran 10.

Uji koagulase dilakukan dengan menambahkan bakteri *Streptococcus mutans* ke dalam plasma darah dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gumpalan yang melekat dan tidak terlepas pada dinding tabung. Hasil identifikasi pada pengujian ini menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 bersifat koagulase positif karena mampu menggumpalkan plasma dengan terjadi perubahan plasma darah yang terdenaturasi oleh bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 sehingga terbentuk gumpalan berwarna putih. Hasil identifikasi secara biokimia, katalase dan koagulase dapat dilihat pada lampiran 10.

12. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri secara difusi

Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri daun jeruk purut terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram yang bertujuan untuk mengetahui diameter zona hambat disekitar cakram disk yang dinyatakan dalam mm, adanya daerah yang jernih disekitar cakram menandakan bahwa kandungan kimia dari minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut beserta kombinasinya memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri daun jeruk purut beserta kombinasinya terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan metode difusi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 10. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum bacilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C) serta kombinasi keduanya terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan metode difusi

Sampel	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm)
		Replikasi			
		1	2	3	
Kemangi tunggal	2%	12	14,25	9,5	11,92 ± 1,940074
Jeruk tunggal	2%	10,5	9,75	7,25	9,17 ± 1,389444
(1:1)	2%	11,75	12	9,75	11,17 ± 1,00692
(1:2)	2%	12,5	14,5	11	12,67 ± 1,433721
(2:1)	2%	12	10,5	8,25	10,25 ± 1,541104
(1:3)	2%	11,75	13	9,75	11,50 ± 1,338532
(3:1)	2%	10,25	12,5	7,5	10,10 ± 2,044641
Kontrol (+)		30,25	21,5	22,75	24,83 ± 3,864008
Kontrol (-)		0	0	0	0
Kemangi tunggal	4%	15,50	15,25	11,50	14,10 ± 1,829542
Jeruk tunggal	4%	11,75	11,25	8	10,33 ± 1,662495
(1:1)	4%	15,25	12,5	13,25	13,67 ± 1,160699
(1:2)	4%	13,75	14,5	12,5	13,58 ± 0,824958
(2:1)	4%	12,75	13,5	11,25	12,50 ± 0,935414
(1:3)	4%	16,75	14,75	12,75	14,75 ± 1,632993
(3:1)	4%	10,75	14,5	9	11,42 ± 2,294317
Kontrol (+)		28,75	22	21	23,92 ± 3,441979
Kontrol (-)		0	0	0	0

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dalam lima perbandingan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri daun jeruk purut dengan tingkat konsentrasi yang berbeda, hal ini bertujuan untuk melihat pengaruh setiap perbedaan perbandingan kombinasi dan perbedaan konsentrasi minyak atsiri pada bakteri yang diujikan. Semakin besar konsentrasi suatu bahan uji maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi yang diperoleh menunjukkan bahwa minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri daun jeruk purut dalam bentuk tunggal maupun kombinasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Hasil zona hambat terbesar yang terbentuk adalah pada kontrol positif dengan luas zona hambat sebesar 24,83 mm. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah eritromisin. Eritromisin merupakan antibiotika golongan makrolida yang bekerja dengan berikatan pada ribosom subunit 50 S sehingga menghambat sintesis protein bakteri. Pemilihan antibiotik ini sebagai kontrol positif karena eritromisin memiliki kepekaan terhadap

kelompok bakteri gram positif *Streptococcus mutans* (Setiabudy 2007). Sampel minyak dalam bentuk tunggal yang memiliki zona hambat paling besar adalah pada sampel kemangi konsentrasi 4% dengan luas zona hambat sebesar 14,083 mm, hal ini sesuai dengan jurnal yang menyatakan bahwa minyak atsiri kemangi memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang lebih besar jika dibandingkan dengan minyak atsiri daun jeruk purut. Daya hambat paling efektif pada kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut adalah pada konsentrasi 4% kombinasi 1:3 (1 bagian minyak atsiri daun jeruk purut dan 3 bagian minyak atsiri daun kemangi) dengan diameter zona hambat sebesar 14,75 mm. Data hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa zona hambat yang terbesar adalah pada kombinasi 1:3 dengan konsentrasi 4% yang melebihi diameter zona hambat pada sampel kemangi dan sampel jeruk purut dalam bentuk tunggalnya, hal tersebut berarti kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut memiliki efek sinergis karena dapat meningkatkan zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* daripada dalam bentuk tunggalnya. efek sinergis didapat dari senyawa linalool yang bekerja dengan cara merusak dinding sel kemudian senyawa citronella pada minyak jeruk purut akan bekerja mendenaturasi dan menginaktivasi protein sehingga terjadi penurunan permeabilitas yang memungkinkan terganggunya transport ion-ion organik penting yang akan masuk ke dalam sel bakteri, sehingga dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel bakteri. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dengan metode difusi dapat dilihat pada lampiran 12.

Berdasarkan data yang diperoleh dilakukan analisis statistik untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut yang diteliti. Analisis yang dilakukan pertama kali adalah analisis normalitasnya dengan menggunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* dan diperoleh angka probabilitas atau Asymp. Sig. (2-tailed). Nilai Sig. zona hambat adalah $0,055 > 0,05$, karena nilai Sig. $>$

0.05 maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut berdistribusi normal. Salah satu asumsi dalam ANOVA Dua Arah adalah variasi skor pada setiap sel hendaknya homogen. Dalam penelitian ini untuk uji homogenitas menggunakan uji *Levene's Test of Equality of Error Variances*, Berdasarkan tabel 4.7 diperoleh nilai (Sig) dari data adalah $0,069 > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen karena memiliki nilai sig lebih dari 0,05. Data yang terdistribusi normal dan homogen dapat dapat dilanjutkan ke *Analysis Of Variance (ANOVA)* dua jalur. Hasil analisis *Analysis Of Variance (ANOVA)* dua jalur dapat dilihat pada lampiran 13.