

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI
(*Ocimum basilicum* L) forma *citrantum back* DAN BATANG SEREH
(*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) TERHADAP
Escherichia coli ATCC 25922**



Diajukan oleh :

**Novi Elisa
18123643A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI
(*Ocimum citrantum* back) *basilicum* L.form DAN BATANG SEREH
(*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) TERHADAP
Escherichia coli ATCC 25922**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Novi Elisa
18123643A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul:

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI
(*Ocimum citrantum* back) *basilicum* L.form DAN BATANG SEREH
(*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) TERHADAP
Escherichia coli ATCC 25922**

Oleh :

Novi Elisa
18123643A

Dipertahankan di hadapan panitia penguji skripsi
Fakultas farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 13 juni 2016

Mengetahui,
Fakultas farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,

Vivin Nopiyanti, M. Sc., Apt

Pembimbing pendamping,

Ismi Rahmawati, M. Si., Apt

Penguji:

1. Opstaria Saptarini, M. Si., Apt

1.

2. Inaratul Rizkhy H, S. Farm. M. Sc., Apt

2.

3. Ismi Rahmawati, M. Si., Apt

3.

4. Vivin Nopiyanti, M. Sc., Apt

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

*“ sesungguhnya sesudah ada kesulitan itu ada kemudahan”
(Qs Al - Insyirah : 6)*

*Allah menghendaki untukmu kemudahan dan tidak
menghendaki untukmu kesusahan”
(Qs Al - Baqorah : 185)*

*“ I’ll spread my wings and I’ll learn how to fly. I’ll do what it
takes till I touch the sky. I’ll make a wish, take a risk, take a
chance, make a change and breakaway”*

Skripsi ini kupersembahkan untuk:

*“Ayah dan ibuku, keluargaku, sahabat, Almamater, bangsa
dan negara”*

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di satu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak dapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap meneriama sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2016



Novi Elisa

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT berkat limpahan rahmat serta kasih-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **”UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L) forma *citrantum* back DAN BATANG SEREH (*Cymbopogon nardus* (L) Radle) TERHADAP *Escherichia coli* ATTC 25922”**. Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat mencapai gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Selesainya penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dari berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan baik secara moril maupun material secara langsung maupun tidak langsung penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djohny Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. DR. R.A Oetari, SU., MM., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Vivin Nopiyanti M. SC., Apt selaku Pembimbing Utama dan Ismi Rahmawati M. SI., Apt selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktu guna membimbing, memberikan nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan menyusun skripsi.
4. Dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.

5. Ilham Kuncahyo, M.sc Apt selaku pembimbing akademik yang telah memberi semangat kepada penulis
6. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
7. Teristimewa kepada Orang Tuaku Bapak Syahroji, Ibu Kamila dan kakak tercinta Slamet Atmodjo yang selalu mendoakan, memberikan motivasi dan pengorbananya yang tidak terukur oleh apapun baik dari segi moril maupun materi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Kepada Tri Atmaja orang yang selalu memberikan semangat, motivasi dan dukungan yang sangat berharga.
9. Rekan Penelitian sekaligus sahabatku Richilianie, Ikae pratiwi, Nur Widyawati, atas bantuan dari kerjasamanya dalam menyelesaikan Penelitian Skripsi ini serta rekan-rekan penilitian di Laboratorium Mikrobiologi (Ria, jojo, Lalu, Syahdat, Sarah, Sela, Tio).
10. Sahabat yang sabar dan telah tempat keluh kasihku Rosyda, M.Dwi Cahyanta, Fransina yang telah menemani perjuanganku menyelesaikan Skripsi ini.
11. Teman-teman seperjuanganku Teori 5 2012, FKK3 2015/2016 dan rekan-rekan S1 Farmasi yang tidak bisa disebutkan satu persatu, serta semua pihak yang telah membantu kelancaran proses skripsi ini.

Surakarta, Juni 2016

Novi Elisa

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang.....	1
B. Perumusan masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Kemangi	7
1. Klasifikasi tanaman Kemangi (<i>Ocimum citrantum</i> back) <i>basilicum</i> L.form	7
2. Nama lain	8
3. Morfologi tanaman.....	8
4. Manfaat dan khasiat	8
5. Kandungan kimia	9
5.1 Minyak atsiri	10
5.2 Flavonoid	11
5.3 Saponin.....	11
5.4 Tanin	12
5.5 Alkoloid	12
B. Sereh (<i>Cymbopogon nardus</i> (L) Rendle).....	13

1. Klasifikasi tanaman	13
2. Nama lain tanaman	14
3. Morfologi tanaman	14
4. Manfaat dan khasiat	14
5. Kandungan kimia	15
C. Minyak atsiri	16
D. Simplisia	17
1. Pengertian simplisia	17
2. Metode destilasi	18
E. Bakteri uji	19
1. Klasifikasi dan sistematika bakteri	19
2. Morfologi dan fisiologi bakteri	20
F. Uji aktifitas antibakteri	20
1. Metode pengujian aktifitas antibakteri	20
2. Mekanisme antibakteri	22
G. Kotrimoksazol	23
H. Kombinasi	23
I. Media bakteri	23
J. Sterilisasi	24
K. Landasan teori	25
L. Hipotesis	27
BAB III METODE PENELITIAN	31
A. Populasi dan sampel	31
1. Populasi	31
2. Sampel	31
B. Variabel penelitian	31
1. Identifikasi variabel utama	32
2. Klasifikasi variabel utama	33
3. Definisi operasional variabel	34
C. Bahan dan alat	34
1. Bahan dan sampel	35
2. Alat	35
D. Jalannya penelitian	35
1. Identifikasi/determinasi tanaman	35
2. Pengambilan bahan	35
3. Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh	36
4. Pemeriksaan organoleptis minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh	36
5. Identifikasi minyak atsiri	37
6. Identifikasi minyak atsiri dan alkohol 70%	37
7. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh secara GC-MS	37
8. Penetapan indeks bias minyak atsiri	38
9. Penetapan berat jenis minyak atsiri	38
10. Sterilisasi alat dan bahan	39

11. Identifikasi bakteri.....	39
11.1 Identifikasi berdasarkan koloni.....	39
11.2 Identifikasi mikroskopis secara morfologi.....	39
11.3 Uji biokimia	40
12. Pembuatan suspensi metode Mc Farland 0,5 uji bakteri <i>Escheria coli</i> ATCC 25922	41
13. Pembuatan kombinasi.....	41
14. Pengujian bakteri	41
E. Analisa data	43
 BAB IV HASIL PENELITIAN	 47
A. Hasil identifikasi tanaman	47
1. Hasil identifikasi tanaman	47
2. Pengambilan bahan	47
3. Hasil isolasi minyak atsiri.....	48
4. Analisis minyak atsiri	48
4.1. Organoleptik	48
4.2. Identifikasi minyak atsiri dengan kertas saring dan sudan II	49
4.3. Hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh	50
4.4. Hasil penetapan bobot jenis	50
4.5. Hasil penetapan kelarutan dalam alkohol 70%	50
4.6. Hasil identifikasi senyawa minyak atsiri dengan GCM	51
5. Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	52
6. Hasil identifikasi mikroskopik bakteri <i>Escherichia coli</i>	52
7. Hasil identifikasi biokimia terhadap bakteri <i>Escherichia</i> <i>coli</i>	53
8. Hasil pengujian aktifitas antibakteri secara difusi	54
9. Hasil pengujian antibakteri secara dilusi	57
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	 59
A. Kesimpulan.....	59
B. Saran	59
 DAFTAR PUSTAKA	 61
 LAMPIRAN.....	 65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Daun kemangi	7
2. Batang sereh.....	13
3. Morfologi <i>Eschericia coli</i> ATCC 25922	19
4. Skema alur penelitian kombinasi minyak atsiri dari daun kemangi dan batang sereh	44
5. Skema pengujian aktifitas antibakteri destilasi kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh terhadap bakteri <i>Eschericia coli</i> ATCC 25922 dengan metode difusi	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil Rendemen minyak atsiri	48
2. Pemeriksaan organoleptik	48
3. Hasil identifikasi minyak atsiri kertas saring dan sudan II.....	48
4. Hasil pemeriksaan indeks bias	50
5. Kekeruhan dalam alkohol 70 %	50
6. Identifikasi senyawa minyak atsiri kemangi secara GCMS.....	51
7. Identifikasi senyawa minyak atsiri sereh secara GCMS	51
8. Hasil uji biokimia	53
9. Diameter daya hambat minyak atsiri tunggal dan kombinasi dari daun kemangi dan batang sereh dengan metode difusi.....	55
10. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh (1:1) dengan metode dilusi.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Identifikasi tanaman	65
2. Gambar daun kemangi dan sereh	66
3. Bahan yang digunakan	67
4. Hasil pemeriksaan organoleptic minyak atsiri	68
5. Hasil pemeriksaan identifikasi minyak atsiri kertas saring dan sudan II	69
6. Hasil pemeriksaan indeks bias	70
7. Pemeriksaan kelarutan dalam alkohol 70 %	71
8. Hasil identifikasi sereh dan kemangi secara GCMS	72
9. Hasil uji antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri	73
10. Hasil pengujian pada media pertumbuhan	77
11. Hasil kombinasi dan tunggal minyak atsiri dengan pembanding antibiotik secara difusi	77
12. Hasil pengamatan KHM dan KBM secara dilusi	78
13. Alat-alat yang digunakan	79
14. Perhitungan rendemen minyak atsiri.....	80
15. Perhitungan indeks bias	82
16. Perhitungan bobot jenis	82
17. Hasil diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi	86
18. Penentuan KBM kombinasi minyak atsiri 1:1 terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	86
19. Hasil SPSS	88

INTISARI

ELISA, NOVI, 2016, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L) forma *citrantum back* DAN BATANG SEREH (*Cymbopogon nardus* (L) Radle) TERHADAP *Escherichia coli* ATTC 25922, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Pengobatan penyakit diare dapat menggunakan obat modern maupun tradisional yang dikombinasikan. Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L) forma *citrantum back* dan batang serih (*cymbopogon nardus*) adalah tanaman yang bekerja sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih terhadap bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922.

Daun kemangi dan batang serih didestilasikan secara terpisah dengan metode uap dan air. Hasil destilasi dibuat kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih dengan perbandingan kombinasi (1:1; 1:2; 2:1; 1:3; 3:1). Metode uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini adalah metode difusi dan dilusi. Metode dilusi dengan menggunakan deret konsentrasi 100%-0,20% dengan perbedaan tiap tingkat konsentrasi setengah kali. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Varians (ANOVA) satu jalur.

Hasil uji metode difusi kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih yang paling efektif ialah pada perbandingan 1:1 dengan diameter rata-rata $20,68 \pm 0,850$. Hasil dilusi Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ialah 12,5%. Hasil penelitian kandungan kimia minyak atsiri daun kemangi adalah Z-citral dan 2,6-oktadienal. Senyawa terbesar dari minyak atsiri batang serih adalah Z-citral dan Beta myrcene yang merupakan senyawa berpotensi sebagai antibakteri.

Kata kunci : *Escherichia coli*, Antibakteri, Minyak atsiri, *Ocimum basilicum* L, *Cymbopogon nardus* L.

ABSTRACT

ELISA, NOVI, 2016, ACTIVITIES ANTIBACTERIAL COMBINATION essential oil basil (*Ocimum basilicum L. forma Citratum back*) DAN ROD LEMONGRASS (*Cymbopogon nardus (L) Radle*) ON *Escherichia coli* ATTC 25 922, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, Surakarta.

Treatment of diarrhea can use combination modern and traditional medicine. Basil leaves (*Ocimum basilicum l. forma Citratum back*) and stems lemongrass (*cymbopogon nardus*) are plants that work as an antibacterial. This study aims to determine the activity of the combination of essential oils of basil leaves and stalks lemongrass against bacteria *Escherichia coli* ATTC 25 922.

Basil leaves and stems lemongrass distilled separately with the steam and water method. The results of distillation made onto combination of essential oils of stems lemongrass and basil leaves with a combined ratio (1: 1; 1: 2; 2: 1; 1: 3; 3: 1). Antibacterial activity test methods in this research are the diffusion and dilution methods. Dilution method using a concentration series 100% -0.20% with differences in each level of concentration is a half. Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) one way.

The test result of combination diffusion method of essential oils of stems lemongrass and basil leaves of the most effective is the ratio of 1: 1 with an average diameter of 20.68 ± 0.850 . Dilution result Minimum Kill Concentration (MKC) was 12.5%. The results of the study of chemical constituents of essential oil of basil leaves are Z-citral and 2,6-oktadienal. The compounds of essential oils of stems lemongrass are Z-citral and Beta myrecene which are potentially as antibacterial compounds.

Keywords: *Escherichia coli*, Antibacterial, Essential oils, *Ocimum basilicum L*, *Cymbopogon nardus L*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit pada gangguan pencernaan yang terjadi pada usus dapat menimbulkan penyakit salah satunya yaitu diare. Diare adalah suatu keadaan yang frekuensi dan konsistensinya melebihi frekuensi normal dengan konsistensi feses yang encer. Diare penyebab utama kematian pada balita. Bakteri penyebab diare salah satunya adalah *Escherichia coli* merupakan bagian terbesar flora normal usus besar kuman manusia (Broto 2006). *Escherichia coli* mungkin menyebabkan diare memproduksi enterotoksin yang secara tidak langsung menyebabkan kehilangan cairan. Diare ada dua macam yaitu diare spesifik dan non spesifik. Diare spesifik adalah diare yang disebabkan karena bakteri, diare non spesifik yang disebabkan karena faktor makanan. Diare yang berkepanjangan dapat melemahkan penderitanya tubuh kehilangan banyak energi dan cairan. Pengganti seperti cairan elektrolit, maupun obat antibakteri sangat diperlukan serta pemberiannya tergantung penyebab diare (Depkes 1993).

Indonesia kaya akan berbagai jenis tumbuhan obat yang banyak digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat zaman dahulu sampai sekarang. Salah satu bahan alam yang sering digunakan ialah minyak atsiri. Minyak atsiri dikenal dengan istilah minyak mudah menguap merupakan senyawa yang umumnya berwujud cairan, diperoleh dari bagian tanaman akar, kulit, batang, daun, buah,

biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan. Minyak atsiri diperoleh secara destilasi (Sastrohamidjojo 2004).

Tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L) forma *citranthum back* merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki banyak manfaat. Kemangi 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* seperti senyawa alkaloid, minyak atsiri dan fenol. Sifat dari penghambatan ini disebut sebagai bakteriostatik atau bakteriosida (Hadipoentyanti dan Wahyuni 2008). Penyebab penyakit yang banyak diderita oleh masyarakat kuman penyebab diare oleh bakteri *Escherichia coli* (Oktalia 2009).

Kandungan flavonoid daun kemangi dapat memberikan efek antibakteri *Escherichia coli*. Kandungan Minyak atsiri daun kemangi 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 Savita 2012).

Bagian tanaman kemangi yang sering diambil minyak atsiri dan uji antibakteri adalah bagian daun kemangi (Atikah 2013). Hasil penelitian sebelumnya bahwa kemangi mempunyai Aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella paratyphi*, *Shigella dysentery*, dan *Escherichia coli*. Penelitian hasil Aktivitas bakteri *Escherichia coli* membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* 25922 hasil pengukuran zona daya hambat pertumbuhan bakteri 16,5 mm.

Efek farmakologis yang memiliki seluruh bagian tanaman kemangi secara tradisional tanaman kemangi digunakan sebagai obat sakit perut, obat demam, menghilangkan bau mulut, dan sebagai sayuran (Oktalia 2009). Fungsi daun kemangi menghilangkan bau badan, nyeri, radang usus, sariawan, membantu mengatasi, merangsang aktivitas saraf pusat, melebarkan pembuluh kapiler (merangsang ereksi), menguatkan hepar, merangsang hormone estrogen, merangsang faktor kekebalan tubuh, merangsang ASI, melebarkan pembuluh darah, mencegah pengentalan darah, melancarkan sirkulasi, merangsang keluarnya hormon androgen dan hormon estrogen, serta mencegah pengeroposan tulang selain itu daunnya bermanfaat untuk memperkuat daya tahan hidup sperma, mencegah kemandulan, menurunkan gula darah, antihepatitis, diuretik, merangsang saraf dan analeptik (Arief 2013).

Berdasarkan penelitian sebelumnya penelitian yang telah dilakukan mengenai penyulingan dan uji antibakteridari daun kemangi (Lee *et al* 2005). Daun kemangi memiliki rasa agak manis, bersifat dingin, bau harum. Penyulingan minyak atsiri dari daun kemangi dengan destilasi uap dan komponen minyak atsiri yang diperoleh kandungan kimia adalah linalol, estragol, metil sinamat, dan sineol, isokarioflen dan kubeben terutama linalool, eugenol, metil khavokol (Kardinan *et al* 2007 dalam Ismail 2006).

Sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) adalah salah satu tanaman penghasil minyak atsiri. Indonesia spesies yang lebih dikenal adalah *West Indian Lemongrass* dan masyarakat umumnya menggunakannya sebagai campuran bumbu dapur dan rempah-rempah karena mempunyai aroma khas seperti lemon.

Aroma ini diperoleh dari senyawa sitral yang terkandung dalam minyak atsiri sereh (Guenter 1948 dan Leung 1980 dalam Ma'mun dan Nurdjannah 1993) minyak atsiri yang terkandung dalam sereh memiliki khasiat sebagai antibakteri.

Kandungan kimia yang terdapat pada minyak atsiri sereh geranial, neral dan mirsen Senyawa tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri sereh memiliki aktifitas antibakteri pada gram positif dan gram negatif. Sereh salah satu tanaman berkhasiat obat yang digunakan oleh masyarakat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit flu, batuk, kangker, minyak atsiri sereh bersifat sebagai anti bakteri, sehingga juga bisa digunakan sebagai obat kumur. Tanaman ini juga berpotensi sebagai zat antioksidan, analgesik (penahan sakit), dan aflatoksigenik (racun yang berpotensi sebagai anti kangker hati, selain itu tanaman ini dapat mengobati gangguan pencernaan, radang, diabetes, gangguan saraf, demam, mencegah kangker, penurunan berat badan, sakit gigi, gusi bengkak, digunakan sebagai detoksifikasi, dan merawat kulit agar tetap indah (Duke 2008).

Penelitian sebelumnya manfaat sereh sebagai antibakteri telah diteliti (Kumar 2009). Efek minyak atsiri sereh terhadap mikroorganisme patogen yang berbeda dan didapatkan hasil bahwa seluruh variasi tanaman sereh tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan *Escherichia coli* memiliki tingkat sensitivitas yang tertinggi konsentrasi minyak atsiri sereh 0,06% dan daya hambat pengukuran zona pertumbuhan terhadap bakteri *Escherichia coli*. Minyak atsiri sereh yang dikenal dengan aktivitas antimikroba berspektrum luas (Leiman 2008).

Penelitian ini dimaksudkan untuk menguji aktivitas kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas dapat diambil suatu perumusan masalah yaitu:

Permasalahan Pertama, apakah kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.form *citrantum* back) dan batang sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?

Permasalahan kedua, Manakah kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh yang paling optimal dalam perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 3:1, 1:3 terhadap aktivitas bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?

Permasalahan ketiga Manakah kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh yang menentukan KHM dan KBM dengan konsentrasi Dilusi adalah satu seri pengenceran sampai konsentrasi minyak atsiri adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20%; kontrol (-) larutan stok kombinasi minyak atsiri, kontrol (+) suspensi bakteri?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan: pertama, penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum*

L.form *citrantum* back) dan batang serih (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?

Kedua, untuk mengetahui kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih yang paling optimal dengan uji difusi dalam perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 3:1, 1:3 terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?

Ketiga, untuk mengetahui kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih yang menentukan KHM dan KBM dengan konsentrasi Dilusi adalah satu seri pengenceran sampai konsentrasi minyak atsiri adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20%; kontrol (-) larutan stok kombinasi minyak atsiri, kontrol (+) suspensi bakteri?

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini di harapkan memberikan masukan kepada semua pihak yang terkait penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan, kepada seluruh masyarakat tentang kombinasi tanaman daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.form *citrantum* back) dan batang serih (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) menggunakan metode destilasi dengan pengambilan minyak atsiri, serta dapat memberikan landasan ilmiah pada penelitian selanjutnya. Penelitian ini dapat digunakan untuk mengetahui efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi dan dilusi pada penelitian selanjutnya

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kemangi

1. Klasifikasi kemangi tanaman (*Ocimum basilicum* L) forma *citrantum back*

Klasifikasi secara lengkap tanaman kemangi adalah sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Tubiflorae

Suku : Lamiaceae

Marga : *Ocimum*

Jenis : (*Ocimum basilicum* L) forma *citrantum back* (Depkes 1985).



Gambar 1. Daun kemangi (B2T2TOOT 2015).

2. Nama Lain

Setiap daerah mempunyai sebutan nama sendiri untuk tanaman kemangi (kemangi (*Ocimum basilicum* L.form *citrantum* back). Berikut ini adalah nama tanaman kemangi dari berbagai daerah.

Daerah Jawa dengan nama lain lampes (sunda), lampes (jawa), kemanghi, roko-roko (Madura), Bali (uku-uku), Maluku (lufe-lufe = Ternate), Sumatra (balakama, kermangi utan, ruku-ruku) (Depkes 2001).

3. Morfologi tanaman

Tumbuhan dengan habitus: semak, semusim, dengan tinggi 30-150 cm; Batang; berkayu, segi empat, beralur, bercabang, berbulu, hijau; Daun: tunggal, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi begerigi, pertulangan menyirip, panjang 14-16 mm, lebar 3-6 mm, tangkai panjang \pm 1 cm, pendek, hijau; bunga: majemuk, bentuk tandan, berbulu, daun pelindung bentuk elips, bertangkai, pendek, hijau, mahkota bulat telur, putih keunguan; Buah; kotak, coklat tua, ; Biji: kecil, tiap buah terdiri empat biji, hitam; Akar: tunggang putih kotor (Depkes 2001).

4. Manfaat dan khasiat

Kemangi 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* seperti senyawa alkaloid, minyak atsiri dan fenol. Sifat dari penghambatan ini disebut sebagai bakteriostatik atau bakteriosida (Hadi dan Wahyuni 2008).

Minyak atsiri terdapat pada setiap bagian tumbuhan yaitu daun, bunga, biji, batang, kulit, dan akar. Minyak atsiri merupakan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai aktivitas antibakteri dan dapat menghambat beberapa jenis bakteri (Ketaren 1985).

Minyak atsiri dari daun kemangi dengan destilasi uap dan komponen minyak atsiri yang diperoleh kandungan kimia adalah linalol, estragol, metil sinamat, eugenol dan sineol, isokarioflin dan kubeben (Kardinan *et al* 2007, Ismail 2006).

Daun kemangi berkhasiat sebagai peluruh air susu sebagai obat penurun panas dan memperbaiki pencernaan. Pelancaran air susu ibu dipakai \pm 25 gram daun segar, dicuci dan dimakan mentah sebagai lalap. bagian tanaman kemangi bermanfaat menghilangkan bau badan dan bau mulut, anastesi, mengatasi ejakulasi prematur, *anti cholinesterase*, merangsang aktivitas saraf pusat, melebarkan pembuluh kapiler, menguatkan hepar, merangsang keluarnya hormone estrogen dan androgen, merangsang faktor kekebalan tubuh, merangsang ASI, mencegah pengentalan darah, melancarkan sirkulasi serta mencegah pengroposan tulang (Suryo 2010). Daun bermanfaat memperkuat daya tahan hidup sperma, mencegah kemandulan, menurunkan gula darah, antihepatitis, diuretik, dan merangsang saraf (Hariana 2008).

5. Kandungan kimia

Kandungan kimia diuji destilasi uap air yaitu material yang disuling terjadi kontak langsung dengan air mendidih. Bahan dapat mengapung diatas air atau benar-benar terendam, tergantung pada berat jenis dan jumlah bahan yang di

gunakan. Destilasi uap air yaitu material yang disulingkan tidak kontak langsung dengan air mendidih. Filtur khas dari metode ini adalah uap jenuh selalu terisi penuh, basah dan tidak pernah panas yang tinggi. Bahan tanaman bersentuhan dengan uap saja bukan dengan air mendidih. Destilasi uap adalah penyulingan uap langsung mirip dengan destilasi uap air tetapi tidak ada air yang di simpan di bawah angsang (Guenther 1948).

Isolasi minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap dan air. Tanaman diletakkan di atas angsang yang terletak beberapa sentimeter di atas permukaan air dalam ketel penyulingan dan dihubungkan dengan pendingin. Suhu diatur sehingga destilat yang keluar dapat menetes terus dengan teratur. Minyak yang keluar ditampung, destilasi diakhiri ketika volume minyak atsiri sudah tidak bertambah. Minyak atsiri dipisahkan dari air dengan corong pisah dan dilewatkan atau disaring dengan natrium sulfat anhidrat. Minyak atsiri yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup dan terlindung dari cahaya (Guenther 1948).

5.1. Minyak atsiri. Minyak atsiri adalah campuran beberapa senyawa yang mudah menguap dan unsur utamanya sering digunakan sebagai agen nabati karena kemampuannya sebagai obat tradisional dan toksisitasnya terhadap kapang patogenik tanaman dan bakteri (Delespaul *et al* 2000 dalam Miftakhurohmah *et al* 2008).

Minyak atsiri terdapat pada setiap bagian tumbuhan yaitu daun, bunga, biji, batang, kulit, dan akar. Minyak atsiri merupakan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai aktivitas antibakteri dan dapat menghambat beberapa jenis

bakteri (Ketaren 1985). Kemangi 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* seperti senyawa alkaloid, minyak atsiri dan fenol.

Minyak atsiri dari daun kemangi dengan destilasi uap dan komponen minyak atsiri yang diperoleh kandungan kimia adalah linalol, estragol, metil sinamat dan sineol, isokariofillen dan kubeben (Kardinan *et al* 2007. Ismail 2006).

5.2. Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa tumbuhan yang digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 . Mempunyai aktifitas sebagai antibakteri karna mekanisme kerjanya dengan merusak permeabilitas barrier mikroorganisme, juga berfungsi sebagai antioksidan (Robinson 1995).

5.3. Saponin. Saponin memiliki sifat yang menyerupai sabun. Merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolysis sel darah merah dan beberapa saponin bekerja serbagai antibakteri (Robinson 1995).

Saponin adalah suatu glikosida yang terdapat pada banyak macam tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada tanaman bagian-bagian tertentu dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan dan sebagai pelindung terhadap serangan serangga. Saponin menyebabkan stimulasi pada jaringan tertentu misalnya pada epitel hidung, bronkus, dan ginjal

stimulasi pada ginjal diperkirakan menimbulkan efek diuretika. Sifat menurunkan tegangan permukaan yang ditimbulkan oleh saponin dapat dihubungkan dengan daya ekspektoransia, dimana dengan sifat ini lendir dilunturkan atau dicairkan. Saponin dapat mempertinggi resorpsi berbagai zat oleh aktivitas permukaan, juga dapat merenggangkan partikel tak larut dan menjadi partikel tersebut tersebar dan terbagi halus dalam larutan (Sirait 2007).

5.4. Tanin. Tanin merupakan sejenis kandungan tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat, yang aktifitasnya mampu mendenaturasi protein dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin terhidrolisis biasanya berupa senyawa alorf, higroskopik, berwarna coklat kuning yang larut dalam air (terutama air panas), dan dalam pelarut organik polar tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzene atau kloroform (Robinson 1995). Tanin berperan sebagai pelindung tumbuhan untuk melawan dehidrasi, pembusukan, dan perusakan oleh hewan. Secara komersial tanin digunakan khususnya dalam industri penyamak kulit (Mulyani 2006)

5.5. Alkaloid. Ekstrak ditambah dengan 1 ml asam klorida 2N, dan 9 ml air, panaskan diatas penangas air selama 2 menit kemudian didinginkan dan saring. Pindahkan 3 tetes filtrat pada kaca arloji kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Bourchardat LP. Jika dengan Bourchardat LP terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam dan dengan mayer LP termasuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol pekat, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes 1995).

B. Sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle)

1. Klasifikasi tanaman

Klasifikasi tanaman secara lengkap tanaman sereh adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Super Divisi : Spermatophyte

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Sub kelas : Commelinidae

Ordo : Poales

Suku : Poaceae

Genus : *Cymbopogon*

Spesies : (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) (Winkanda 2015).



Gambar 2. Batang sereh (B2P2T00T 2015).

2. Nama lain tanaman

Nama ilmiah : (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle).

Nama daerah : sere (jawa), serih (sunda), serai (minangkabau), serai (lampung) : tapisa-pisa, bewuwu, gara ma kusu (Maluku)

Nama asing : ginger grass (inggris), xiang mao (cina) (Winkanda 2015).

3. Morfologi tanaman

Tumbuhan dengan habitat batang yang tegak atau condong, membentuk tumpun, pendek, masif, bulat (silindris), gundil seringkali di bawah buku-bukunya berlilin, penampang lintang batang berwarna merah, Daun tunggal, lengkap, pelepah daun silindris, gundul, seringkali bagian, permukaan dalam berwarna merah, ujung berlidah (ligula), helaian lebih dari sepuluh menggantung, remasan berbau aromatik, bunga tersusun dalam malai atau bulir majemuk, bertangkai atau duduk, berdaun, daun pelindung bermetamorfosis, menjadi gluma steril, dan fertil (pendukung bunga), kelopak bermetamorfosis, menjadi bagian palea, (2 unit) dan lemma atau sekam, (1 unit), mahkota bermetamorfosis menjadi 2 kelenjar lodicula, berfungsi untuk membuka bunga di pagi hari. Benang sari berjumlah 3-6, membuka secara memanjang. Kepala putik sepasang berbentuk bulu, dengan percabangan berbentuk jambul. Buah jenis padi, memanjang, pipih dorso ventral, embrio separo bagian biji, waktu berbunag januari-september. Tumbuh pada daerah dengan ketinggian 50-2700 m dpl (Winkanda 2015).

4. Manfaat dan khasiat

Minyak atsiri serih berkhasiat sebagai antibakteri, antikanker, flu dan batuk, sehingga bisa digunakan sebagai obat kumur. Tanaman ini juga berpotensi

sebagai zat antioksidan dan aflatoksigenik racun yang berpotensi sebagai anti kanker hati. Selain itu tanaman ini juga dapat mengobati gangguan pencernaan, radang, diabetes, gangguan saraf, demam, mencegah kanker, penurunan berat badan, sakit gigi, gusi bengkak, digunakan sebagai detoksifikasi, dan merawat kulit agar tetap indah (Duke 2008).

Indonesia kaya akan berbagai jenis tumbuhan obat yang banyak digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat zaman dahulu sampai sekarang. Salah satu bahan alam yang sering digunakan ialah minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan salah satu produk bahan rempah. Minyak ini sangat mudah menguap dan berbau wangi sesuai warna tanaman penghasil. Salah satu tanaman penghasil minyak atsiri adalah sereh dapur (Duke 2008).

Penelitian sebelumnya manfaat sereh sebagai antibakteri telah diteliti (Kumar 2009). Efek minyak atsiri sereh terhadap mikroorganisme patogen yang berbeda dan didapatkan hasil bahwa seluruh variasi tanaman sereh tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan *Escherichia coli* ATCC 25922 memiliki tingkat sensitivitas yang tertinggi. Selain itu minyak atsiri sereh yang dikenal dengan aktivitas antimikroba berspektrum luas (Feriyanto *et al* 2013).

5. Kandungan kimia

Sereh adalah salah satu tanaman penghasil minyak atsiri. Indonesia spesies yang lebih dikenal adalah *West Indian Lemongrass* dan masyarakat umumnya menggunakannya sebagai campuran bumbu dapur dan rempah-rempah karena mempunyai aroma khas seperti lemon. Minyak atsiri ini sangat mudah menguap dan berbau wangi sesuai warna tanaman penghasil (Jafari *et al* 2012).

Kandungan kimia yang terdapat pada minyak atsiri sereh ialah Kandungan kimia yang terdapat pada minyak atsiri sereh geranial, neral dan mirsen Senyawa tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri sereh memiliki aktifitas antibakteri pada gram positif dan gram negatif (Hamza *et al* 2009).

C. Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah zat yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, atau minyak essensial karna pada suhu biasa (suhu kamar) mudah menguap diudara terbuka. Istilah essensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya dalam keadaan segar dan murni tanpa pencemaran. Minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Dalam penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih tua (gelap). Untuk mencegah supaya tidak berubah warna, minyak atsiri harus terlindung dari pengaruh cahaya, misalnya disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap. Bejana tersebut juga diisi sepuh mungkin sehingga tidak memungkinkan berhubungan langsung dengan oksige udara, ditutup rapat serta disimpan ditempat yang kering dan sejuk (Gunawan dan Mulyani 2004).

Secara kimiawi minyak atsiri tersusun dari campuran yang rumit dari berbagai senyawa, namun suatu senyawa tertentu biasanya bertanggung jawab atas suatu aroma tertentu (Robinson 1995).

(Gunawan dan Mulyani 2004) sifat-sifat minyak atsiri ialah : Tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas, umumnya bau ini

mewakili bau asalnya, memiliki rasa getir, kadang-kadang berasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau dingin ketika terasa dikulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, pada keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bias disabunkan dengan alkali dan tidak bias berubah menjadi tengik (*Rancid*), bersifat tidak stabil dalam pengaruh lingkungan, baik berupa oksigen udara, sinar matahari dan panas, indeks biasanya tinggi. Pada umumnya bersifat optis aktif dan memutar bidang polarisasi dengan rotasi yang spesifik dan tidak mudah bercampur dengan air tetapi cukup larut sampai dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutannya sangat kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik.

Kualitas minyak atsiri ditentukan dari sifat fisika minyak atsiri, sifat fisika tersebut antara lain bobot jenis dan indeks bias minyak atsiri. Bobot jenis merupakan salah satu kriteria paling penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri (Guenther 1948). Indeks bias adalah perbandingan kecepatan cahaya dalam udara dengan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Indeks bias berguna untuk identifikasi kemurnian (Guenther 1948).

D. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan mineral (Gunawan & mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang belum berupa zat kimia murni. Simplisia harus memenuhi persyaratan minimal untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan maupun kegunaannya. Faktor yang mempengaruhi yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia termasuk cara penyimpanan bahan baku simplisia dan cara pengepakan (Gunawan & mulyani 2004).

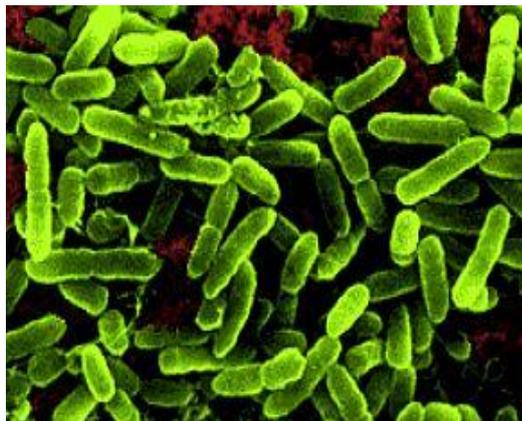
2. Metode destilasi

Penyulingan minyak atsiri dengan destilasi di bedakan menjadi tiga jenis yaitu destilasi air, destilasi uap air, destilasi uap.

Destilasi air yaitu material yang di suling terjadi kontak langsung dengan air mendidih. Bahan dapat mengapung diatas air atau benar-benar terendam, tergantung pada berat jenis dan jumlah bahan yang digunakan. Destilasi uap air yaitu material yang disulingkan tidak kontak langsung dengan air mendidih. Filtur khas dari metode ini adalah uap jenuh selalu terisi penuh, basah dan tidak pernah panas yang tinggi. Tanaman bersentuhan dengan uap saja bukan dengan air mendidih. Destilasi uap adalah penyulingan uap langsung mirip dengan destilasi uap air tetapi tidak ada air yang disimpan di bawah angsang (Guenther 1948).

Minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap dan air. Tanaman diletakkan di atas anggang yang terletak beberapa sentimeter di atas permukaan air dalam ketel penyulingan dan dihubungkan dengan pendingin. Suhu diatur sehingga destilat yang keluar dapat menetes terus dengan teratur. Minyak yang keluar ditampung, destilasi diakhiri ketika volume minyak atsiri sudah tidak bertambah. Minyak atsiri dipisahkan dari air dengan corong pisah dan dilewatkan atau disaring dengan natrium sulfat anhidrat. Minyak atsiri yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup dan terlindung dari cahaya (Guenther 1948).

E. Bakteri uji



Gambar 3. *Escherichia coli* (Suriawiria 1985).

1. Klasifikasi dan sistematika bakteri

Sistematika bakteri *Escherichia coli* dalam taksonomi sebagai berikut:

- Devisi : Protophyta
- Classis : Schizomycetes
- Order : Eubacteriales
- Familia : Enterobacterriceae

Genus : *Escherichia*

Spesie : *Escherichia coli* (Suriawiria 1985).

2. Morfologi dan fisiologi bakteri

Escherichia coli bentuk batang, panjang 1-3 μ , lebar 0,4-0,7 μ , bersifat Gram negatif (bakteri yang tidak mempertahankan zat metil ungu pada pewarnaan Gram). Letak satu sama lain kadang-kadang bersifat seperti rantai. Bakteri ini dapat bergerak aktif mempunyai flagel peritrik dan dapat memecah laktosa secara cepat. *Escherichia coli* merupakan bagian terbesar flora normal usus besar kuman manusia. Kuman ini dahulu dianggap kuman yang tidak patogen bila berada diluar jaringan tubuh diluar saluran pencernaan Pada saat ini banyak ditemukan *Escherichia coli* dari tinja penderita diare. Bekteri jenis ini ternyata mempunyai sifat yang dapaat menyebabkan terjadinya diare (Trihendrokesowo 1987). Diare dapat disebabkan oleh keracunan makanan, konsumsi makanan yang tidak higienis, atau mengkonsumsi bahan makanan yang sulit sicerna (misalnya buah yang belum masak). Selain itu diare dapat disebabkan karena infeksi bakteri *Escherichia coli* isolat penderita diare (Sudibyo 2006)

F. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode pengujian aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode antara lain:

Pertama, metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan

sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Diameter zona hambat yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat bakteri. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisika kimia, faktor antara minyak atsiri daun kemangi dan sereh terhadap bakteri (Jawetz *et al.* 2001).

Kedua, metode dilusi. Metode ini dilakukan dengan mencampur Mencampur minyak atsiri secara homogen dalam media dengan jumlah atau konsentrasi yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi kuman kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono 1982). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 1989).

Metode dilusi ada dua macam yaitu dilusi cair dan dilusi padat pada prinsipnya metode ini dilakukan dengan mengencerkan zat yang akan diuji menjadi beberapa konsentrasi pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi diubah suspensi bakteri dalam media, sedangkan dilusi padat tiap konsentrasi zat uji dicampur media agar, lalu ditanami bakteri, hasil yang didapatkan pada metode ini adalah kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Metode dilusi dilakukan dengan membuat suatu seri konsentrasi yang terdiri atas beberapa tabung reaksi. Masing-masing tabung ditambah bahan uji yang diperiksa

kecuali untuk tabung kontrol positif, kemudian ditambahkan bakteri yang telah diencerkan kedalam tiap-tiap tabung reaksi kecuali kontrol negatif (Bonang dan Koeswardono 1982).

Sediaan tersebut diinkubasi pada suhu ruang dan diamati adanya batas tabung yang jernih selanjutnya diujikan media *Endo Agar*. Cara melakukan inokulasi yaitu dengan mengambil sebanyak satu ose sediaan uji kemudian digoreskan kedalam cawan petri yang berisi medium yang telah memadat. Diinkubasi pada suhu kamar selama 24 – 48 jam. Keuntungan metode dilusi yaitu memungkinkan adanya suatu hasil kuantitatif yang melihatkan jumlah obat yang diperlukan untuk menghambat dan membunuh bakteri yang diperiksa. Kekurangannya adalah dapat mempersulit pengamatan, membutuhkan alat yang banyak, dan tidak praktis (Jawetz *et al* 1989).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri berbeda-beda sesuai dengan sifat dan bakteri yang digunakan yaitu, menghambat metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri dan menghambat sintesis dan merusak asam nukleat sel bakteri. Aktivitas selektif antibakteri dapat dibedakan menjadi antibakteri yang bersifat bakteristatik yaitu hanya menghambat pertumbuhan bakteri saja dan antibakteri yang bersifat membunuh atau disebut bakterisid. Bakteri ini bersifat flora normal suatu bagian terbesar usus besar kuman manusia, kuman ini dulu dianggap kuman yang tidak patogen bila berada diluar jaringan tubuh manusia. Pada saat saluran pencernaan

banyak ditemukan *Escherichia coli* dari tinja manusia bakteri jenis ini mempunyai sifat yang dapat menyebabkan terjadinya diare (Ganiswara 1995).

G. Kotrimoksasol

Kombinasi ini dari sulfametoksasol dan trimetoprim bersifat bakterisid terhadap Gram positif dan Gram negatif dengan spektrum kerja lebih luas dibanding sulfonamida. Kotrimoksasol jarang menimbulkan resistensi sehingga banyak digunakan untuk berbagai penyakit infeksi (Kirana Rahardja 2003).

Kotrimoksasol mempunyai beberapa variasi dosis dengan kombinasi obat yang mengandung sulfametoksasol dan trimetoprim. Pada tablet oral mengandung trimetoprim 80 mg dan sulfametoksasol 400 mg, tablet sulfametoksasol 800 mg trimetoprim 160 mg, pada suspense per 5ml mengandung sulfametaksasol 200 mg trimetoprim 40 mg. penggunaan pada usia 12 tahun keatas dan dewasa adalah 2 x sehari 2 tablet biasa atau 2 x sehari 1 tablet forte. Anak usia 6 – 12 tahun 2 x sehari 1 – 2 sendok takar atau 2 x sehari $\frac{1}{2}$ – 1 tablet biasa. Anak usia 2 – 5 tahun 2 x sehari $\frac{1}{2}$ – 1 sendok takar (Depkes 2008).

H. Kombinasi

Minyak atsiri adalah campuran beberapa senyawa yang mudah menguap dan unsur utamanya sering digunakan sebagai agen nabati karena kemampuannya sebagai obat tradisional dan toksisitasnya terhadap kapang patogenik tanaman dan bakteri (Delespaul *et al* 2000 dalam Miftakhurohmah *et al* 2008).

Kombinasi obat adalah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi. Penggunaan dua obat dalam formulasi yang berbeda dan diminum Bersama-sama atau menggunakan dua obat yang diminum dalam waktu yang berbeda tetapi kemudian berada bersama-sama dalam darah. Kombinasi obat dapat menimbulkan interaksi, sehingga kemudian terjadi peningkatan atau penurunan efek obat (Siswondono dan Soekardjo 2000).

Efek kombinasi dari beberapa agent kimia yang berbeda dapat dilihat dengan melihat hubungan dosis yang linier, terdapat jenis interaksi antara dua agen kimia yaitu aditif, sinergis, antagonis. Aditif terjadi jika efek gabungan yang ditimbulkan dua zat kimia sebanding dengan jumlah efek dari masing-masing agen. Antagonis merupakan kebalikan dari sinergis terjadi jika efek antagonis muncul akibat penetralan zat kimia atau efeknya lebih lemah dari pada jumlah yang diberikan masing-masing agen (Depkes 2006).

I. Media Bakteri

Media adalah tempat jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisiyang mengandung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, didalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba.

Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain (Abdurahman 2008).

Konsistensi media dapat dibuat bermacam-macam berdasarkan pada keperluannya. Terdapat tiga bentuk media yaitu media cair, padat, dan setengah padat. Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media padat (*solid media*) digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat (*semisolid media*) digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Sriyanti dan Wijayani 2008).

Fungsi media antara lain untuk menumbuhkan mikroba, untuk mengisolasi mikroba, untuk memperbanyak mikroba, untuk menguji sifat-sifat mikroba, untuk menghitung jumlah mikroba, dan untuk menyimpan mikroba, bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematat seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya, maka bentuk media dikenal tiga jenis yaitu media padat, media cair dan media semi padat atau semi cair.

J. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang dipergunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril (Waluyo 2004). Sterilisasi merupakan suatu proses untuk membunuh semua jasad renik yang ada, sehingga jika ditumbuhkan di dalam suatu medium tidak ada lagi jasad renik yang dapat berkembang biak. Dalam sterilisasi harus dapat membunuh jasad renik yang paling tahan panas seperti bakteri. Sterilisasi dengan autoklaf biasanya disebut sterilisasi basah Atau

sterilisator uap yang mudah diangkat dengan menggunakan uap air jenuh bertekanan pada suhu 121°C disebabkan oleh tekanan 1 atm. Sterilisasi basah juga dapat menggunakan metode lain seperti perebusan, tyndalisasi, pasteurisasi, pemanasan kering, radiasi, radiasi ionisasi, penyaringan, dan lain-lain (Fardiaz 2001).

Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar x, sinar α , dan sinar UV untuk bahan yang tidak aktif akan berubah akibat temperatur tinggi atau tekanan tinggi. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin dan sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian (Darmandi 2008).

K. Landasan Teori

Penyakit gangguan pencernaan salah satunya adalah penyakit diare, diare dapat disebabkan oleh keracunan makanan, selain itu diare dapat disebabkan karena infeksi bakteri *Escherichia coli*

Minyak atsiri dikenal dengan istilah minyak mudah menguap merupakan senyawa yang umumnya berwujud cairan, diperoleh dari bagian tanaman akar, kulit, batang, daun, buah, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan minyak atsiri diperoleh secara destilasi.

Minyak atsiri daun kemangi memiliki kandungan kimia adalah linalol, estragol, metil sinamat, dan sineol, isokariofillen dan kubeben (Kardinan *et al* 2007 dan Ismail 2006 dalam Lee *et al* 2005).

Hasil penelitian sebelumnya bahwa kemangi mempunyai Aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella paratyphi*, *Shigella dysentery*, dan *Escherichia coli*. Penelitian hasil aktivitas bakteri *Escherichia coli* membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922 hasil pengukuran zona daya hambat pertumbuhan bakteri 16,5 mm.

Kandungan kimia yang terdapat pada minyak atsiri sereh geranial, neral dan mirsen Senyawa tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri sereh memiliki aktifitas antibakteri pada gram positif dan gram negatif (Duke 2008). Efek minyak atsiri sereh terhadap mikroorganisme patogen yang berbeda dan didapatkan hasil bahwa seluruh variasi serai tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan *Escherichia coli* memiliki tingkat sensitivitas yang tertinggi konsentrasi minyak atsiri sereh 0,06% daya hambat pengukuran zona pertumbuhan terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922. Dengan perbandingan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh terhadap aktivitas bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922 dengan zona hambat yang dilihat dalam pengujian antibakteri secara difusi dan dilusi. Dilihat dari hasil difusi kombinasi minyak atsiri zona hambat terbaik dan diuji secara dilusi untuk mengetahui KHM dan KBM dari kombinasi minyak atsiri.

L. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah :

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun hipotesis dalam penelitian yaitu kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh:

Pertama, Kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.form *citratum* back) dan batang sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, Perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 3:1, 1:3 kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh yang paling optimal terhadap aktivitas bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dari pada tunggalnya.

Ketiga, kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh yang menentukan KHM dan KBM dengan konsentrasi dilusi adalah satu seri pengenceran sampai konsentrasi minyak atsiri adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20%; kontrol (-) larutan stok kombinasi minyak atsiri, kontrol (+) suspensi bakteri.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi dan sereh yang diambil secara acak bulan Januari 2016 di BPTO2TOOT, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2015.

2. Sampel

Sampel merupakan bagian dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kemangi daun yang bersih, hijau, sehat, segar, baik yang masih muda maupun tua. Sereh bagian batang yang bersih, sehat, segar, baik yang masih muda maupun tua yang diambil secara acak bulan Januari 2016 di BPTO2TOOT, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2015.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang membuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama penelitian ini adalah minyak atsiri dari daun kemangi dan sereh.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh terhadap bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali, dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel terhanung. Variabel dalam penelitian ini sebagai konsentrasi minyak atsiri dari daun kemangi dan sereh yang digunakan sebagai uji antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922.

Variabel terkendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisis atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah bakteri uji *Escherichia coli* ATTC 25922, kondisi laboratorium (meliputi kondisi inkas, alat, bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, tepat tumbuh tanaman, waktu panen pemilihan daun, pemilihan batang, dan metode destilasi uap air.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922 di media uji, yang dipengaruhi oleh kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh dari uji destilasi uap air.

3. Definisi operasional variabel

Pertama, daun kemangi adalah daun yang diambil dari tanaman kemangi diambil secara acak didapat dari daun yang bersih, hijau, sehat, segar, baik yang masih muda maupun tua di BPTO2TOOT, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2015

Kedua, sereh adalah serehbagian tengah batang yang di ambil dari serehdiambil secara acak didapat dari daun yang bersih, hijau, sehat, segar, baik yang masih muda maupun tua di BPTO2TOOT, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2015.

Ketiga, Minyak atsiri daun kemangi adalah minyak atsiri hasil destilasi daun kemangi dengan menggunakan metode destilasi uap air. Dari Fakultas Farmasi, Laboratorium Fitokimia, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Keempat, Minyak atsiri sereh adalah minyak atsiri hasil desrtilasi daun kemangi dengan menggunakan metode destilasi uap air. Dari Fakultas Farmasi, Laboratorium Fitokimia, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Kelima, *Escherichia coli* ATTC 25922 adalah bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Setia budi, Surakarta.

Keenam, Aktivitas antibakteri adalah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau mematikan pertumbuhan bakteri dengan metode difusi untuk bakteri *Escherichia coli* yang dilihat daerah jernih pada daerah sumuran dan diukur diameter hambatnya. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Setia budi, Surakarta.

Ketujuh, Aktivitas antibakteri adalah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang dilihat dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 3:1, 1:3. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Setia budi, Surakarta.

Kedelapan, Aktivitas antibakteri adalah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang dilihat kekeruhan pada daerah sekitar sempel. Dilusi adalah satu seri pengenceran sampai konsentrasi akhir minyak atsiri adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20%; kontrol (-) larutan stok kombinasi minyak atsiri, kontrol (+) suspensi bakteri. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Setia budi, Surakarta.

Kesembilan, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah KBM yang dapat membunuh *Escherichia coli* ATTC 25922 dan (KHM) Konsentrasi Hambat Minimum pada media selektif. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan dan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi dan daun sereh yang masih segar, tidak terlalu tua, dan juga tidak terlalu muda yang diambil di BPTO2TOOT, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2015. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Setia Budi.

Media yang digunakan dalam penelitian adalah *Braint Heart Infusion* (BHI), Endo agar, KIA, LIA, SIM, sitrat, *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, NaCl fisiologi, Na_2SO_4 anhidrat, tween 80, larutan standar Mcfarland 0,5, anisaldehida-asam sulfat, H_2O_2 , NaCl, reagen Ehrlich A dan B, reagen Gram A, Gram B, Gram C, dan Gram D.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi, rak tabung reaksi, obyek glass, cawan petri, erlemeyer, gelas ukur, ose platina, inkas, timbangan, pipet tetes, pipet volume, saring, incubator, pinset, kapas, Bunsen, corong kaca, corong pisah, oven, refraktometer dan seperangkat alat destilasi uap air. Lampu spirtus, korek, penggaris, sepidol permanen,

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi/determinasi tanaman

Tahapan pertama penelitian adalah menetapkan kebenaran daun kemangi dan sereh dengan melakukan identifikasi/determinasi. Identifikasi/determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada daun kemangi dan sereh sesuai kepustakaan dan dibuktikan di bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Laboratorium Biokimia Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

2. Pengambilan bahan

Daun kemangi dan batang sereh yang digunakan dalam penelitian ini yang diambil dari bulan Januari 2016 di BPTO2TOOT, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2015.

Pertama, bagian tanaman yang digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri kemangi adalah daun yang tidak terlalu tua dan juga tidak terlalu muda daun digunakan dalam keadaan masih segar tanpa pengeringan untuk menghasilkan minyak atsiri yang lebih maksimal dalam pengeringan dapat menyebabkan minyak atsiri menguap.

Kedua, bagian tanaman yang digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri sereh adalah batang yang tidak terlalu tua dan juga tidak terlalu muda daun digunakan dalam keadaan masih segar tanpa pengeringan untuk menghasilkan minyak atsiri yang lebih maksimal dalam pengeringan dapat menyebabkan minyak atsiri menguap.

3. Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh

Daun kemangi dan batang sereh yang sudah dipetik masing-masing ditimbang, dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu, dirajang, lalu dilakukan destilasi uap air sampai dihasilkan tetesan minyak atsiri, dari daun kemangi dan sereh sampai minyak atsiri tidak menetes lagi. Uji destilasi uap disendirikan supaya hasil minyak atsiri daun kemangi dan sereh lebih efektif. Minyak atsiri yang tertampung dipisahkan dari air dengan di tambah aquades minyak yang diperoleh disimpan dalam botol tertutup rapat dan terlindungi dari cahaya.

4. Pemeriksaan organoleptis minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh

Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian diamati dan dibandingkan dari aspek bentuk, warna, aroma, dan rasa.

5. Identifikasi minyak atsiri

Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh dengan kertas saring

Pertama, Minyak atsiri daun kemangi diteteskan dalam kertas saring kemudian dilihat jika ada noda lemak berarti ada bekas dikertas saring tunggu sampai kering.

Kedua, Minyak atsiri sereh diteteskan dalam kertas saring kemudian dilihat jika ada noda lemak berarti ada bekas dikertas saring tunggu sampai kering.

Ketiga, Minyak atsiri daun kemangi dan sereh dilakukan secara tunggal masing-masing ditambah sudanll maka akan berubah menjadi warna merahkemudian diteteskan dalam permukaan air maka akan menyebar diatas permukaan air.

6. Identifikasi minyak atsiri dan alkohol 70%

Minyak atsiri daun kemangi dan sereh secara tunggal diteteskan dalam gelas ukur secukupnya kemudian diteteskan alkohol secukupnya secara bertahap jika jernih maka larut dalam alkohol.

7. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh secara GC-MS

Pertama, minyak atsiri daun kemangi kemudian diuji menggunakan GC-MS (Gas kromatografi dan spektomassa). Kromatogram GC-MS minyak atsiri daun kemangi yang telah dilakukan dengan uji destilasi kemudian diuji dengan kromatogram GC-MS komponen senyawa kimia utama minyak atsiri kemangi dianalisis senyawa aktif untuk mengetahui kandungan minyak atsiri identifikasi

menggunakan GC-MS di Fakultas Farmasi, Laboratorium MIPA, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Kedua, minyak atsiri sereh kemudian diuji menggunakan GC-MS (Gas kromatografi dan spektromassa). Kromatogram GC-MS minyak atsiri sereh yang telah dilakukan dengan uji destilasi kemudian di uji dengan kromatogram GC-MS. Komponen senyawa kimia utama minyak atsiri sereh dianalisis senyawa aktif untuk mengetahui kandungan minyak atsiri identifikasi menggunakan GC-MS di Laboratorium Terpadu, UIN Sunan Kalijaga, Yogyakarta.

8. Penetapan indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri dari daun kemangi dan batang sereh diperiksa indeks bias dengan satu kali pengulangan menggunakan refraktometer dengan cara sebagai berikut, badan prisma dibuka kemudian dibersihkan dengan kapas yang dibasahi dengan alkohol. Mengatur refraktometer sehingga dan skala nampak jelas, mencatat temperatur ruang tempat bekerja kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Pemutar sebelah kanan diputar sehingga batas gelap dan terang tepat pada satu garis silang kemudian membaca skala dan mencatat sebagai indeks bias.

9. Menetapkan berat jenis minyak atsiri

Menimbang botol kosong, dimasukkan 1 ml minyak atsiri kedalam botol timbang. Menimbang minyak atsiri dan botol timbang dengan teliti dan akurat, kemudian dihitung bobot jenis minyak atsiri tersebut. Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan minyak atsiri dengan bobot air pada suhu dan volume sama.

10. Sterilisasi alat dan bahan

Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, karena uap panasnya efektif untuk sterilisasi medium. Alat-alat dengan gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170°C- 180°C selama 2 jam. Alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Suriawiria 1989).

11. Identifikasi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922

11.1. Identifikasi berdasarkan koloni. Suspensi bakteri diinokulasi pada media *Endo Agar* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif dikatakan bila penampakan koloni merah dengan logam kilau yang permanen dan warna medium merah violet (Volk & Wheller 1988).

11.2. Identifikasi mikroskopis secara morfologi. Pewarnaan gram untuk memastikan bahwa bakteri tersebut golongan Gram negatif. Gram negatif didapatkan bila bakteri berwarna merah, bentuk bacili berarti positif golongan *Escherichia coli*. Penetasan kristal violet (Gram A) menyebabkan kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan bakteri Gram positif dan negatif. Penetasan mordant (*lugol.s iodine*/Gram B) menyebabkan adanya ikatan CV dengan iodine yang akan meningkatkan aktifitas pengikatan zat warna oleh bakteri. Pada Gram positif dapat terbentuk CV iodine-ribonukleat pada dinding sel. Penetasan gram C (alkohol 96%) menyebabkan pori-pori pada Gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larutan dalam etanol), sehingga kompleks CV-*iodine* tidak menempel di dinding sel, menyebabkan sel gram negatif berwarna bening.

Penetesan *counterstain* (safari/Gram D), safari akan mewarnai sel gram negatif menjadi wana merah (Volk dan Wheller 1988).

11.3. Uji biokimiawi. Pertama uji biokimia SIM (*Sulfide Indol Motility*). Biakan bakteri ditanaman pada media SIM dengan cara tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. uji sulfida positif bila medium berwarna hitam, uji indol positif bila berbentuk warna merah setelah pertumbuhan reagen erlich, uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media.

Kedua uji KIA (*Kliger's Iron Agar*) pengujian media KIA dilakukan pengamatan pada bagian lereng, dasar, ada tidaknya gas dan terbentuk warna hitam. Biakan bakteri diinokulasi secara tusuk gores kemudian diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. amati adanya warna kuning pada bagian lereng dan pada bagian dasar, pertumbuhan adanya media yang pecah atau terangkat keatas menunjukkan adanya gas, warna media yang tridak berubah warna hitam menunjukkan uji sulfida negatif.

Ketiga uji LIA (*Lysin Iron Agar*). Pengujian media LIA dilakukan pengamatan pada bagian lereng, dasar dan adanya sulfida. Biakan bakteri ditanamkan pada bagian media LIA yang akan diamati dengan cara inokulasi tusuk dan gores, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati adanya perubahan warna merah, coklat, ungu atau kuning pada bagian lereng dan dasar media LIA melihatkan uji sulfida positif.

Keempat uji citrat. Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan citrate sebagai karbon tunggal uji positif bila media berwarna biru (Volk & Wheeler 1988).

12. Pembuatan suspensi metode McFarland 0,5 uji bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Bakteri diambil dari biakan murni diambil kurang lebih 2 ose dan ditanam pada media BHI (*Brain Heart Infusion*) diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diencerkan dengan NaCL fisiologis sampai didapat kekeruhan yang disamakan dengan McFarland 0,5 dengan jumlah koloni 1×10^8 CFU/ml. suspensi diencerkan sebanyak 1:1000 untuk pengujian dilusi.

13. Pembuatan kombimasi

Minyak atsiri daun kemangi dan sereh yang sudah di destilasi uap air dikombinasikan dengan perbandingan pertama, minyak atsiri kemangi 0.5 dan minyak atsiri sereh 0.5 dengan perbandingan (1:1). Kedua, minyak atsiri kemangi 0.33 dan minyak atsiri sereh 0.67 dengan perbandingan (1:2). Ketiga, minyak atsiri kemangi 0.25 dan minyak atsiri sereh 0.75 dengan perbandingan (1:3). Keempat, minyak atsiri kemangi 0,67 dan minyak atsiri sereh 0,33 dengan perbandingan (2:1). Kelima, minyak atsiri kemangi 0,75 dan minyak atsiri sereh 0,25 dengan perbandingan (3:1).

14. Pengujian antibakteri

Kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh hasil destilasi uap air diuji dengan Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi.

Pertama, metode difusi. Penelitian ini menggunakan dua cawan petri. Pertama bakteri diambil dari media MHA sebanyak 50 ml kemudian dituangkan pada cawan petri diratakan oleskan bakteri sampai merata.

Cawan petri pertama, berisi 5 cakram dengan diameter cakram 6 mm kombinasi 1:1, kedua berisi kombinasi 1:2, ketiga berisi kombinasi 2:1, keempat berisi kombinasi 1:3, kelima berisi kombinasi 3:1.

Cawan petri kedua, berisi 3 cakram dengan diameter cakram, tunggal dari minyak atsiri kemangi, tunggal dari mintak atsiri sereh dan kontrol (+) kotrimoksazol, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 24 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur.

Pengukuran zona hambat disekitar sumuran dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

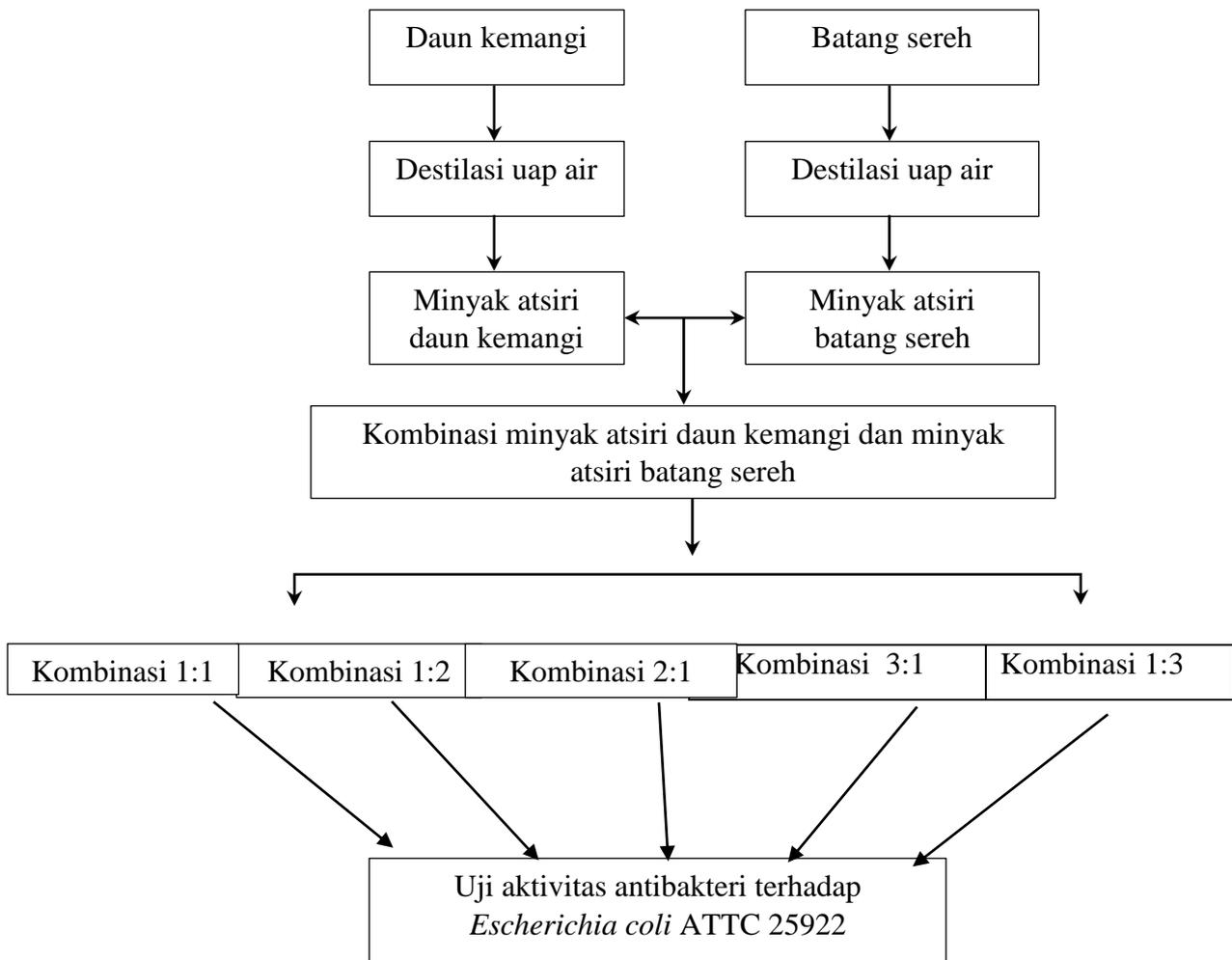
Kedua, metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis.

Metode dilusi menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril masing-masing tabung reaksi steril mempunyai beberapa konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi minyak atsiri adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20% dan Kontrol (-) larutan stok kombinasi

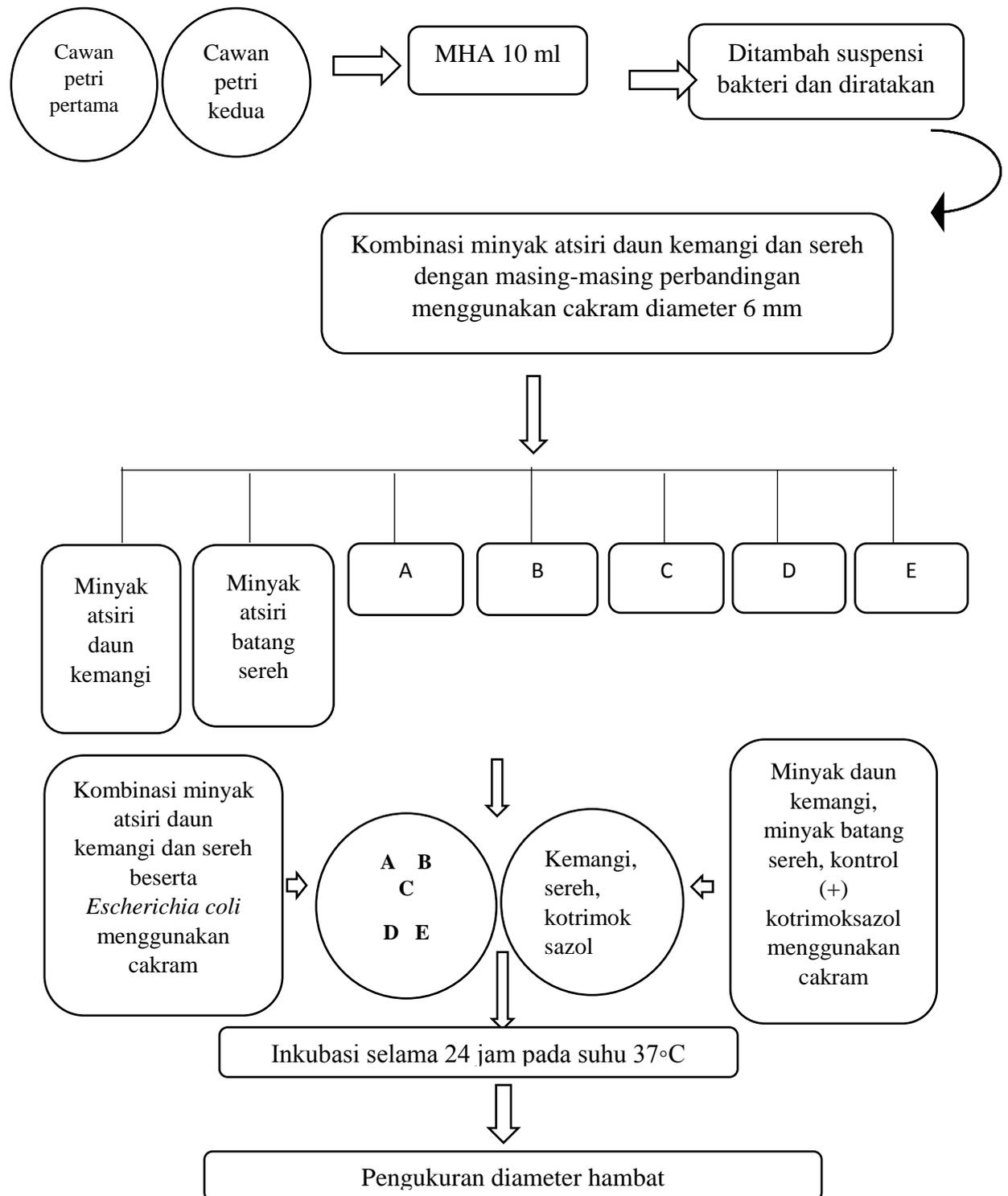
minyak atsiri, kontrol (+) suspensi bakteri. Suspensi bakteri dalam medium BHI dimasukan ke dalam masing-masing tabung uji dari tabung ke 2-11, tabung 1 kontrol negatif (kombinasi minyak atsiri) dan 12 berisi control positif (bakteri). Dari tabung ke 2-11 dimasukan BHI 0,5ml, tabung ke 2 berisi minyak atsiri kombinasi, bakteri dan pelarut tween 80, tabung ke 3 berisi kombinasi kemangi, bakteri dan pelarut tween 80, kemudian pipet 0,5ml sampai tabung ke 11 dan buang 0,5ml. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, lalu diamati kekeruhannya. Menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan cara tabung media yang jernih diinokulasikan secara goresan pada media selektif untuk masing-masing bakteri uji dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam. Mengamati ada tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan medium lempeng. KBM ditujukan oleh konsentrasi terendah pada media selektif yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

E. Analisis Hasil

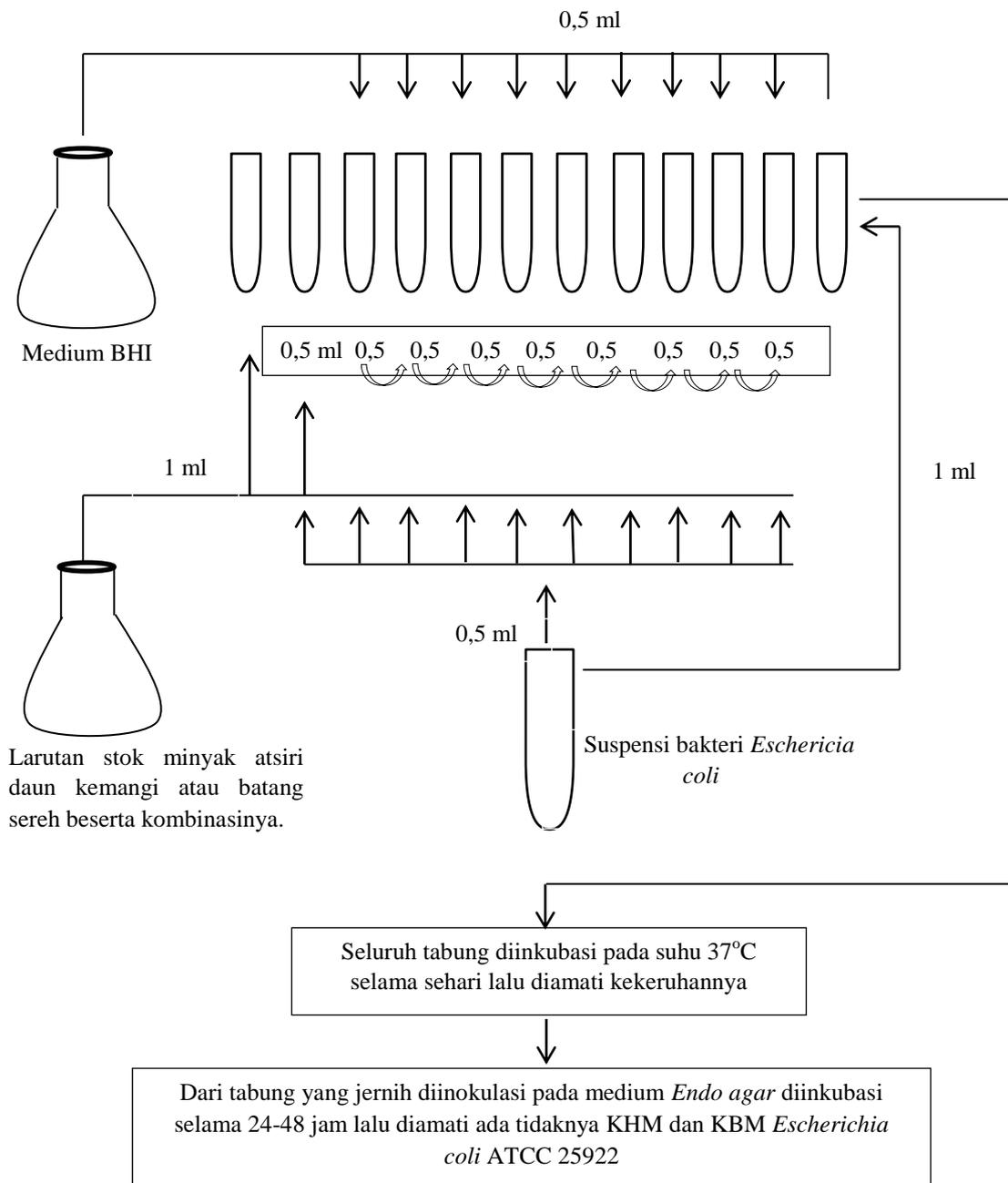
Hasil penelitian dianalisis berdasarkan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh yang telah diuji dengan pengujian antibakteri yang dilihat dengan daya hambat bakteri terhadap kombinasi minyak atsiri. Analisa data untuk membandingkan minyak atsiri daun kemangi dan sereh terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922 dengan uji ANOVA berdasarkan daya hambat digunakan metode LSD sehingga didapat hasil signifikan.



Gambar 4. Skema alur penelitian kombinasi minyak atsiri dari daun kemangi dan sereh dengan uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922.



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri destilasi kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode difusi.



Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri destilasi kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil identifikasi tanaman

1. Hasil identifikasi tanaman.

Identifikasi tanaman ini di maksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan diambil dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain oleh karena itu sebelum tanaman kemangi dan sereh dilalukan untuk uji destilasi dan uji antibakteri dilakukan identifikasi bagian tanaman kemangi yang digunakan daun, dan bagian batang sereh yang digunakan bahwa daun kemangi yang digunakan adalah jenis kemangi (*Ocimum basilicum* L. forma *citratum* Back), suku Limiaceae dan batang sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle), suku poaceae.

Identifikasi tanaman dilakukan di Universitas Gajah Mada, Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Hasil identifikasi daun kemangi dan batang sereh dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan bahan.

Daun kemangi dan batang sereh diambil untuk penelitian diambil sebanyak 20 kg dari B2P2TOOT Tawangmangu Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2015. Gambar daun kemangi dan sereh dapat dilihat pada lampiran 2.

3. Hasil isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh dilakukan dengan destilasi uap dan air karena dapat meminimalisasi kerusakan komponen-komponen aromatikanya

Sehingga dapat menghasilkan kualitas minyak yang baik juga jika dibandingkan dengan destilasi uap (Harun 2010). Isolasi dihentikan setelah minyak atsiri sudah tidak menetes lagi. Proses pemisahan destilasi dan hasil minyak atsiri kemangi dan sereh dapat dilihat pada lampian 15.

Tabel 1. Hasil Rendemen minyak atsiri

Sampel	Bobot sampel (gram)	Volume minyak	Rendemen (%)
Kemangi	5000	10,00	0,20
Sereh	4000	10,40	0,26

Hasil rendemen minyak atsiri kemangi dan sereh dengan bobot sampel kemangi 5000 dengan volume minyak 10,00 hasil rendemen 0,20% dan sereh dengan bobot sampel 4000 dengan volume minyak 10,40 dengan hasil rendemen 0,26%. Hasil konsentrasi nilai rendemen sereh lebih tinggi dibandingkan dengan dengan nilai rendemen kemangi karena dari volume minyak atsiri yang didapat dari daun kemangi 10,00 lebih rendah dari volume minyak atsiri yang didapat dari batang sereh 10,40 sehingga hasil rendemen minyak atsiri daun kemangi yang dihasilkan 0,20% dan minyak atsiri batang sereh 0,26%. Hasil rendemen minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh membuktikan kandungan minyak atsiri sereh lebih besar 0,26 dibandingkan dengan minyak atsiri daun kemangi 0,20 yang telah dihasilkan dari uji masing-masing rendemen sampel minyak atsiri.

4. Analisis minyak atsiri

4.1. Organoleptik. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh. berdasarkan pemeriksaan organoleptik hasil pemeriksaan terhadap minyak atsiri daun kemangi dan sereh.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptik

Minyak atsiri	Bentuk	Warna	Aroma	Rasa
Kemangi	Larutan	kuning muda	Aromatik	Hambar menyengat, wangi
Sereh	Larutan	Kuning tua	Aromatik	Pedas, wangi

Hasil pemeriksaan organoleptik yang dapat bahwa minyak atsiri daun kemangi memiliki bentuk larutan, warna kuning muda, Aromatik dan rasa hambar menyengat, wangi. Minyak atsiri batang sereh memiliki bentuk larutan, warna kuning tua, Aromatik, rasa pedas dan wangi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemeriksaan organoleptik sesuai pustaka dapat dilihat pada lampiran 4 (Gunawan dan Mulyani 2004).

4.2. Identifikasi minyak atsiri

Tabel 3. Hasil identifikasi minyak atsiri dengan kertas saring dan sudan II

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri daun kemangi kemangi dan sereh.	Secara tunggal minyak atsiri kemangi dan sereh. 1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring.	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Sesuai dengan pustaka (Gunawan dan Mulyani 2004).
Minyak atsiri dengan sudan II	Ditetesi dalam permukaan air akan menyebar.	Hasil menyebar dalam permukaan air	Sesuai dengan pustaka (Gunawan dan Mulyani 2004).

Identifikasi umum terhadap minyak atsiri tersebut menunjukkan bahwa identifikasi sesuai dengan pustaka (Gunawan dan Mulyani 2004). hal ini menunjukkan bahwa daun kemangi dan sereh memiliki kandungan minyak atsiri. Bila minyak dituangkan dalam air maka minyak akan menyebar di permukaan air membentuk bulatan-bulatan seperti lapisan film. Adanya daya kohesi dan adhesi atas permukaan menyebabkan terjadinya sudut kontak yang besar berbeda ini terlihat apabila cairan diteteskan pada suatu permukaan air. Bila cairan membasahi, maka bila sudut kontak kecil namun bila cairan berwujud tetesan, maka sudut kontak besar. Besarnya sudut kontak tergantung pada besarnya tegangan permukaan antara cairan dan permukaan dimana cairan akan menetes.

Hasil minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh dapat dilihat pada gambar lampiran 5.

4.3. Hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri daun kemangi dan sereh.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan indeks bias

Indeks bias minyak atsiri pada suhu 25°C	Pustaka
Minyak atsiri daun kemangi 1,577	Indek bias minyak atsiri daun kemangi (20°C) 1,512-1.519 (Depkes 1970) dan batang sereh (20°C) 1,559-1,597 (Depkes 2006)
Minyak atsiri batang sereh 1,565	

Pemeriksaan indek bias dilakukan dengan refraktometer dan didapatkan hasil menurut penelitian minyak atsiri daun kemangi 1,577 dan minyak atsiri batang sereh 1,565 pada suhu 25°C, sedangkan menurut (Depkes 2006) pada suhu 20°C adalah 1,559-1,597 indeks bias minyak atsiri yang sudah dikonversikan suhu ruang pada suhu 25°C adalah minyak atsiri kemangi dan minyak atsiri sereh 1,565 – 1,577. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri sereh dapat dilihat pada lampiran 6.

4.4. Hasil penetapan bobot jenis. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri. Hasil dari penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri sereh. Bobot jenis menurut praktik minyak atsiri kemangi = 1, 161. Bobot jenis menurut praktik minyak atsiri sereh = 1, 202. Jadi bobot jenis menurut praktik setara dengan bobot jenis menurut pustaka. Perhitungan konversi dapat dilihat pada lampiran 16.

4.5. Hasil penetapan kelarutan dalam alkohol 70%.

Tabel 5. kekeruhan dalam alkohol 70%

Bagian simplisia	Volume minyak asiri	Volume alkohol 70%	Kelarutan dalam alkohon 70%
Daun kemangi	1 tetes	3 tetes	1:3 jernih
Sereh	1 tetes	3 tetes	1:3 jernih

Kelarutan minyak atsiri daun kemangi dan sereh bagian tengah dalam alkohol sesuai dengan pustaka yaitu minyak atsiri dari daun kemangi dan sereh bagian tengah mempunyai perbandingan kelarutan dalam alkohol 1:3 jernih. Hasil penetapan kelarutan dalam alkohol dapat dilihat pada lampiran 7.

4.6. Hasil identifikasi senyawa minyak atsiri dengan GCMS.

Tabel 6. Senyawa minyak atsiri kemangi

No	Senyawa	RT (min)	Luas Area	BM
1	5-Heptana	11.400	2,03	126
2	1,6-oktatrien	14.025	0,27	136
3	Linalool	15.829	3,54	154
4	Z-citral	20,383	32,79	152
5	2,3,6-Oktadienal	21,417	43,43	154
6	beta.-Caryophyllene	25.767	2,39	204

Tabel 7. Senyawa minyak atsiri sereh

No	Senyawa	RT (min)	Luas Area	BM
1	Beta myrecene	4.690	4,15	136
2	Linalool	6.598	0,74	154
3	Garanyl acetate	7.801	1,44	124
4	2,6 oktadien	9,642	0,47	182
5	Z-citral	9,645	39,91	138
6	1H-siklopropana (e) azulena	16,702	3,32	204

Hasil analisis komponen minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh kandungan senyawa yang paling besar, dimana komponen peak tersebut memiliki indeks kemiripan dengan senyawa yang sesuai dengan referensi minyak atsiri daun kemangi adalah Z-citral dan 2,6-oktadienal senyawa komponen utama minyak atsiri daun kemangi yang terbesar merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dan hasil komponen yang terbaik. Komponen utama minyak atsiri batang sereh adalah Z-citral, Beta myrecene, 1H-siklopropana (e) azulena senyawa komponen utama minyak atsiri batang sereh merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dan hasil komponen terbaik sesuai dengan pustaka

(Andrian 2000). Hasil masing- masing spectra GC-MS dapat dilihat pada lampiran 8 dan 9.

5. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* yang diinokulasi medium endo agar seteah diinokulasi selama 24 jam suhu 37°C. Hasil pengamatan koloni yang dihasilkan berwarna merah dengan logam kilauan permanen disebabkan karena reaksi penengahnya yaitu asetaldehida dengan Na-dulfiat. Koloni warna merah kilau logam laktosa-positif, *Escherichia coli* (Metallic Sheen) (Volk dan Wheller 1988). Identifikasi makroskopis pada *Escherichia coli* berdasarkan pustaka dapat dilihat dalam lampiran 11.

6. Hasil identifikasi mikroskopik bakteri *Escherichia coli*.

Pewarnaan dilakukan untuk meyakinkan bahwa bakteri *Escherichia coli* golongan Gram negatif. Didapat bila sel bakteri berwarna merah, bentuk bacilli berarti positif golongan *Escherichia coli*. Pewarbaan (Gram) dilakukan dengan membuat preparat ulas (smear) yang difikasi kemudian tetes Kristal violet (Gram A) sebagai pewarna utama pada kedua preparet sampai semua ulasan terwarnai diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquades mengalir kemudian tetesi mordant (*lugol,s iodin*/Gram B), diamkan kurang lebih 1 menit kemudian cucilagi dengan air mengalir dan dikeringkan anginkan, preparat dilunturkan denagan (Gram C/alkohol) dan didiamkan kurang lebih selama 1 menit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir kemudian keringkan preparat dengan kertas tissue yang ditempelkan disisi ulasan lalu didiamkan sampai mengering diudara (Volk & Wheller 1988). Identifikasi mikroskopis dapat dilihat dalam lampiran 11.

7. Hasil identifikasi biokimia *Escherichia coli*.

Tabel 9. Hasil uji biokimia

Pengujian	Hasil	Pustaka (Volk dan Wheller 1988)
SIM	+++	+++
KIA	A/AGS (-)	A/AGS (-)
LIA	K/KS (-)	K/KS (-)
Citrat	-	-

Hasil pengujian pada medium Sulfida Indol Motilitas (SIM) untuk mengetahui bentuknya sulfida, indol dan motilitas. Pengujian dengan media sulfida indol motilitas SIM setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C menunjukkan hasil +++, sulfida indol motilitas artinya pada uji sulfida *Escherichia coli* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide sehingga media tidak berwarna hitam uji indol dengan menambahkan tetes Erlich A dan B, permukaan media berwarna merah muda ini berarti uji indol positif, bakteri *Escherichia coli* membentuk indol. Uji motilitas positif yaitu dengan penyebaran sulfide indol motilitas (SIM). Hasil pengujian pada medium Kliger's Iron agar untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Pengujian dengan medium KIA setelah diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam menunjukkan hasil A/AGS (-), A/A artinya pada lereng dasar media berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa bakteri memfermentasi glukosa dan laktosa, G artinya terbentuk gas, yang ditandai dengan terangkatnya media, S(-) H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media karna bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S, dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam, medium KIA membentuk glukosa dan laktosa dalam konsentrasi 1% laktosa, 0,1

glukosa dan phenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam media KIA juga mengandung sodium thiosulfat yaitu suasana penghasil H₂S.

Medium lysin Iron Agar (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian dengan LIA setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C menunjukkan hasil K/KS (-), K/K. Artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu. Hal ini tidak menunjukkan bakteri ini tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (berwarna ungu) diseluruh media. S(-) artinya uji H₂S negtif ditunjukkan tidak ada warna hitam pada media LIA (Volk dan Wheller 1988) hasil pengamatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia Coli*.

Hasil pengujian pada medium CITRAT untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal pengujian dengan medium citrat setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C menunjukkan negatif sehingga warna media tetap hijau menunjukkan bahwa *Escherichia coli* tidak menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Medium citrat terdapat indikator BTB (Bromo thymol blue) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan citrat menyebabkan suasana basa. Sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna hijau menjadi biru.

Hasil pengujian biokimia *Escherichia coli* dapat dilihat dalam lampiran 11.

8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi.

Metode difusi dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh dengan konsentrasi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1 menggunakan cakram

serta tunggal dari minyak atsiri kemangi dan sereh, dengan pembanding obat kotrimoksazol digunakan untuk daya antibakteri yang terbaik dari perbandingan tersebut dengan bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922.

Medium MHA yang digunakan 1 cawan petri berisi 50ml, yang digunakan dalam penelitian ini 2 cawan petri , cawan petri yang pertama berisi kombinasi, dan cawan petri kedua berisi tunggal dari kemangi dan sereh serta pembanding antibiotik kotrimoksazol. Masa inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Uji ini dilakukan tiga kali replikasi dan satu untuk skripsi hasil uji difusi membuktikan bahwa konsentrasi perbandingan terbaik ada pada konsentrasi 1:1 (0,5 : 0,5). Kemudian diuji lagi dengan uji dilusi untuk mengetahui KHM dan KBM. Hasil uji difusi dan tunggalnya dapat dilihat pada lampira 12.

Tabel 10. Diameter daya hambat minyak atsiri tunggal dan kombinasi dari daun kemangi dan batang sereh dengan metode difusi

Konsentrasi	Diameter daerah hambat (mm)				Rata-rata	SD
	I	II	III	IV		
100%						
Kotrimoksazol	28,0	35,0	35,0	30,0	29.50	3.5590
Daun Kemangi	27,0	30,0	26,0	23,0	26.50	2.8868
Batang sereh	26,0	28,0	25,0	28,0	26.75	1.5342
1:1	20,0	21,75	20,0	21,0	20,68	0.8508
1:2	15,0	12,5	15,0	11,0	13,37	1.8287
1:3	19,5	18,0	14,0	14,0	16,37	2.8099
2:1	10,0	17,0	16,0	15,0	14,50	3.1091
3:1	16,0	12,0	16,0	10,75	13,68	2.7185

Hasil dari metode difusi dari ,konsentrasi terbaik dengan hasil paling efektif adalah 1:1 (0,5 : 0,5) dengan nilai rata-rata terbaik dari kombinasi 1:1 $20,68 \pm 0,850$.

Analisa hasil SPSS test homogenitas dengan diameter hambat minyak atsiri signifikan 0,077 artinya $0,077 > 0,05$ hasil test homogenitas signifikan. Hasil diameter hambat dilihat dari ANOVA signifikan 0,000. Hasil LSD nilai 1:1

ada perbedaan yang menunjukkan bahwa konsentrasi 1:1 > 0,05 terdeferensial signifikan.

Analisa hasil statistik menunjukkan konsentrasi terbaik 1:1 dimana konsentrasi 1:1 memiliki diameter hambat terbesar dari konsentrasi kombinasi lainnya. Dari GCMS senyawa yang mampu menghambat uji aktivitas antibakteri senyawa terbesar dari minyak atsiri daun kemangi Z-citral dan 2,6-oktadienal. Senyawa terbesar dari minyak atsiri batang sereh Z-citral, Beta myrecene, 1H-siklopropa (e) azulena senyawa ini yang mampu menghambat uji aktivitas antibakteri kemudian masing-masing komponen senyawa kimia minyak atsiri di kelompokkan sesuai dengan table 6 (Andria 2000).

Aktivitas antibakteri minyak atsiri diduga disebabkan adanya senyawa gugus alkoholik dan fenolik. Dalam kemangi dan sereh adapun senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba yaitu minyak atsiri daun kemangi Z-citral dan 2,6-oktadienal. Senyawa terbesar dari minyak atsiri batang sereh Z-citral, Beta myrecene, 1H-siklopropa (e) azulena. Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antimikroba karena adanya gugus OH yang bersifat racun terhadap antimikroba dan semakin banyak gugus OH yang pada senyawa tersebut maka senyawa tersebut semakin beracun terhadap mikroba (Cowan 1999)

Perubahan atau kerusakan sel bakteri oleh senyawa bakteri umumnya diamati dalam bentuk kebocoran sel. Kerusakan sel bakteri merupakan hasil interaksi senyawa antibakteri dengan bagian sel tertentu interaksi senyawa antibakteri dapat menyebabkan sejumlah perubahan atau kerusakan pada sel bakteri yang berpengaruh pada mekanisme inaktivasi bakteri. Bakteri mengalami

luka, terjadi sejumlah perubahan dan kerusakan struktur sel bakteri, sedangkan pada kerusakan sel parah dapat menyebabkan kematian sel. Hasil kombinasi (1:1) dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Hasil uji difusi dapat dilihat lampiran 12.

9. Hasil pengujian antibakteri secara dilusi.

Metode dilusi ini adalah menghambat pertumbuhan bakteri dalam perbenihan destilasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh dicampur dalam perbenihan bakteri dalam medium BHI. Perbenihan yang dipakai harus merupakan perbenihan yang dapat menumbuhkan bakteri secara optimum dan tidak menetralkan minyak atsiri metode ini hanya bertujuan untuk mencari KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Yang telah diuji dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil uji difusi dimana konsentrasi terbaik adalah (1:1) konsentrasi dari kombinasi yang memiliki diameter hambat terbesar dilanjutkan dengan uji dilusi untuk mengetahui konsentrasi terakhir yang tidak ditumbuhi oleh biakan bakteri.

Tabel 11. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh (1:1) dengan metode dilusi

Konsentrasi	Pertumbuhan bakteri pada media EA			
	I	II	III	IV
Kontrol (-)	-	-	-	-
100 %	-	-	-	-
50 %	-	-	-	-
25 %	-	-	-	-
12.5 %	-	-	-	-
6.25 %	+	+	+	+
3.13 %	+	+	+	+
1.56 %	+	+	+	+
0.73 %	+	+	+	+
0.39 %	+	+	+	+
0.20 %	+	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+	+

Hasil dari dilusi ini diperoleh dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih yang efektif dari uji difusi. Metode dilusi didapat konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%, yaitu konsentrasi dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Hasil dari konsentrasi 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20% yaitu konsentrasi dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih yang ditumbuhi oleh bakteri *Escherichia coli*. Hasil ini menunjukkan bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditemukan pada konsentrasi 6,25% adalah konsentrasi pertama yang ditumbuhi bakteri dilihat dari kekeruhan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang serih didalam tabung reaksi yang telah diuji dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilihat dari hasil inokulasi pada medium *Endo agar* yang telah diuji dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. hasil yang didapat pada Konsentrasi Bunuh Minimum 12,5% adalah konsentrasi terakhir yang tidak ditumbuhi oleh bakteri dari cawan petri yang jernih. Hasil uji dilusi dapat dilihat lampiran 13.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L. forma *citratum* Back) dan batang sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) mempunyai aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh yang paling optimal dengan uji difusi dalam perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 3:1, 1:3 terhadap aktivitas bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan konsentrasi yang efektif pada perbandingan 1:1 (0,5 : 0,5).

Ketiga, kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan batang sereh yang menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dihasilkan dari konsentrasi terbaik dari uji difusi (1:1) dan diuji lagi dengan uji dilusi yang dihasilkan Konsentrasi Hambat Minimum pada konsentrasi 6,25% dan Konsentrasi Bunuh Minimum dihasilkan pada konsentrasi 12,5%.

B. Saran

Sesuai dengan hasil penelitian disarankan:

Pertama, perlu dilakukan lebih lanjut destilasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L. forma *citratum* Back) dan batang sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) secara invitro.

Kedua, perlu dilakukan lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L. forma *citratum* Back) dan batang sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) yang bersifat antibakteri.

Ketiga, perlu dilakukan lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri destilasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L. forma *citratum* Back) dan batang sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) dengan menggunakan pelarut dan metode yang lain.

Keempat, perlu dilakukan lebih lanjut dengan pembanting antibiotik sesuai dengan senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun kemangi dan batang sereh.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian dan Kesehatan*. Bandung: Grafito Media Pratama. hlm 63.
- Andrian Agusta. 2000. *Minyak atsiri tumbuhan tropika Indonesia*. Bandung: ITB hlm. 44-45, 113.
- Ali, H & Savita. D. 2012. *In Vitro Antimikrobal, Activity Of Flavonoids Of Ocimumsanctum with Synergistic Effect of Their Asian Pacific Journal of Tropical Disease*.
- Atikah, N. 2013. *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (Ocimum americanum L) terhadap Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah.
- Arief Hariana. 2013. *Penggunaan Kemangi sebagai Bahan Antihepatitis, Diuretic*. Cibubur Jakarta Timur: Penebar Swadya Prum. Bukit permai, Jl kericiblok A2 No. 23-24,
- Bonang G, dan Koeswandono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. Hlm. 77-78, 136, 176-191.
- Cowan M.M. 1999. *Plant Product asd antimicrobial agents. J. Mikrobiology*. Bandung: ITB. *Reviews* 612 (4). Hlm. 564-582.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika hlm. 80-81.
- [Depkes RI 1985] *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 76.
- [Depkes RI 1995] *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Edisi IV hlm 378.
- [Depkes RI 2001] *Dasar-dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*. Yogyakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- [Depkes RI 1970] *Indeks Bias Tanaman, minyak atsiri kemangi*. Yogyakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

- [Depkes RI 2006] *Kombinasi tanaman, Indeks Bias Tanaman, minyak atsiri sereh*. Yogyakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- [Depkes RI 1993] *Ilmu Kesehatan Anak Nelson*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Penerbit Buku Kedokteran. Edisi 15 vol 2.
- Duke J, 2008. *Cymbopogon citratus Species Activity Information. Phytochemical and Ethnobotanical Database*. Semarang: Fakultas Kedokteran Gigi Unisulla.
- Feriyanto Y.E. 2013. *Pengembangan Minyak Atsiri dari Daun dan Batang Serai Wangi (Cymbopogon Winterianus) Menggunakan Metode Distilasi Uap dan Air dengan Pemanasan Microwave*. Jakarta: Jurnal Teknik Pomits Vol.2, (1):93–97.
- Guenther. Ernest. 1948. *The Essential Oil (Minyak Atsiri, terjemahan Ketaren, pokok bahasan: Sereh Dapur)*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Vol. 4
- Ganiswara, 1995. *Farmakologi dan terapi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Edisi IV
- Hamza I.S. Sundus H. A. Hussaine A. 2009. *Study the Antimicrobial Activity of Lemon Grass Leaf Extracts 2:1*. Manado: Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Sam Ratulangi
- Hadipoenyanti E & Wahyuni. S. 2008. *Keragaman Selasih (Ocimum Spp.) Berdasarkan Karakter Morfologi, Produksi dan Mutu Herba*. Bandung; ITB. Hal 141-148.
- Ismail M. 2006. *Central Properties and Chemical Composition of Ocimum basilicum Essential Oil. Pharmaceutical Biology*. Yogyakarta: UGM. Vol. 44. No.8. hlm. 619-626.
- Jafari B. Amirreza E. Babak M. A. and Zarifeh H. 2012. *Antibacteria Activities of Lemon Grass Methanol Extract and Essence 7*. Manado: Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Sam Ratulangi.
- Jawetz. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

- Jawetz E. Melnick, J.L and adelberg E. A. 1989 *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Diterjemahkan oleh boning G. Jakarta: Edisi XVI. ECG. Penerbit Universitas Indonesia. Edisi XVI. ECG. Hlm 58-63, 299
- Kardinan A. Gunandini, D. J & Iffah. D. 2007. *Pengaruh Ekstrak Kemangi (Ocimumbasilicum forma citratum) terhadap Perkembangan Lalat Rumah (Muscadomestica) (L.)*. *J. Entomol. Indon*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. Vol. 5 . No. 1, 36 - 44.
- Ketaren S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Jakarta: Erlangga.
- Kemala S. Sudiarto E.R. pribadi, JT. Yuhono, M. Yusron, L. Mauludi. M. Rahardjo B. Waskito dan H. Nurhayati. 2004. *Studi serapan pasokan dan pemanfaatan tanaman obat di Indonesia. Laporan Teknis Penelitian. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Edisi IV. Hlm 187.
- Lee K. G. Shibamoto T & Lee S. J. 2005. *Identification of Volatile Components in basil (Ocimumbasilicum L) and thyme leaves (Thymus vulgaris L.) and their antioxidant properties*. *Food Chemistry*. Jakarta: Penebar Swamedya 91. 131-137.
- Mulyani S. Gunawan D. 2004. *Ramuan Tradisional untuk Penderita Asma. Cetakan ke-5*. Jakarta: Penebar Swamedya Hlm 151-152.
- Mulyani S. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Kanisus. Hlm 72-73.
- Ma'mun dan Nurdjannah, N. 1993. *Pengaruh Perajangan dan Lama Pelayuan terhadap Rendemen dan Mutu Minyak Serai Dapur (Cymbopogon citratus Stapf)*. *Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. Jakarta: Universitas Indonesia. Vol VIII. No. 1. Hal: 42 – 45.
- Oktalia. 2009. *Kapita Selekta Dispensing I*. Yogyakarta: UGM Press. Halaman 27.
- Rahayu. T. Fauzia, R. S & Maryati. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum basilicum L) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Jakarta: Universitas Indonesia. Vol. 8, No. 1:30 – 38.

- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB. Penerjemah Kosasih Padmawinata.
- Sastrohamidjojo H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sirait M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB. hlm 71-72, 152, 191-192, 208.
- Suriawiria U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi umum*. Bandung: PT. Angkasa. hlm 58-65.
- Sudiby B. 2006, *Ramuan tradisional ala Eyang Broto*. Jakarta: Penerbit Swadya.
- Trihendrokesowo. 1987/1988. *Penyakit infeksi akibat pangan, proyek pengembangan peningkatan pengaruh tinggi* Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Volk WA. dan Wheeler MF. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Erlangga. hal 97, 331-335.
- Winkanda 2015. *Aneka Resep & Ramuan Tanaman Obat untuk berbagai gangguan kesehatan*. Jakarta: hlm 249-252.

Lampiran 1. Hasil identifikasi tanaman



**DEPARTEMEN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
Telp. , 0274.649.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN

No.: BF/153 Ident 1/2016

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Novi Elisa
NIM. 18123643A
Fakultas Farmasi USB
Di Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi sampel tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
453	<i>Cymbopogon nardus</i> (L) Rendle	Poaceae
	<i>Ocimum basilicum</i> L.forma <i>citratum</i> Back.	Lamiaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 13 Januari 2016
Kepala



Dit. nat. Triana Hertiani, M.Si., Apt.
NIP. 197306091998032003

Lampiran 2. Gambar daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dan sereh (*Cymbopogon citratus*).



A. daun kemangi (*Ocimum sanctum*)



B. Sereh (*Cymbopogon nardus*)

Lampiran 3. Gambar bahan yang digunakan



A. Antibiotik kotrimoksazol

Lampiran 4. Gambar hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dan sereh (*Cymbopogon citratus*) berdasarkan bentuk, warna, aroma, rasa.



B. Natrium klorida



A. Sampel Organoleptik

Lampiran 5. Gambar hasil pemeriksaan identifikasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum sanctum*) dan sereh (*Cymbopogon citratus*) menggunakan kertas saring.



A. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum citrantum*)



B. Identifikasi minyak atsiri sereh (*Cymbopogon*

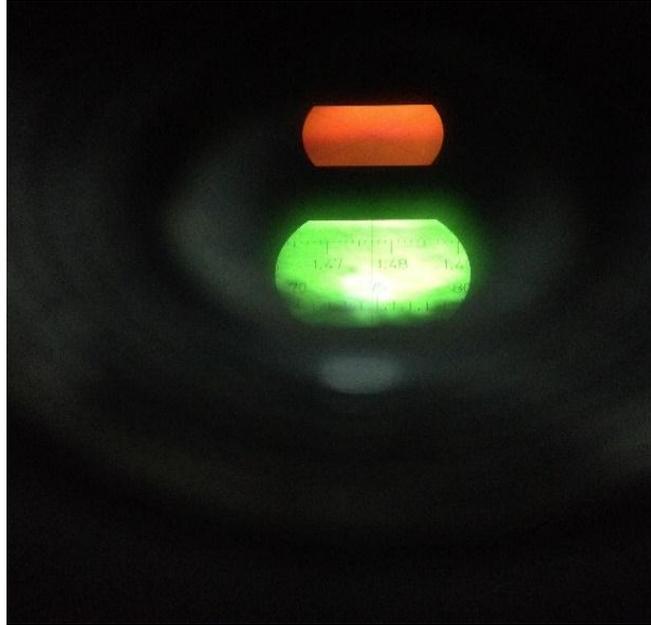


B. minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum citrantum*) dengan sudan II

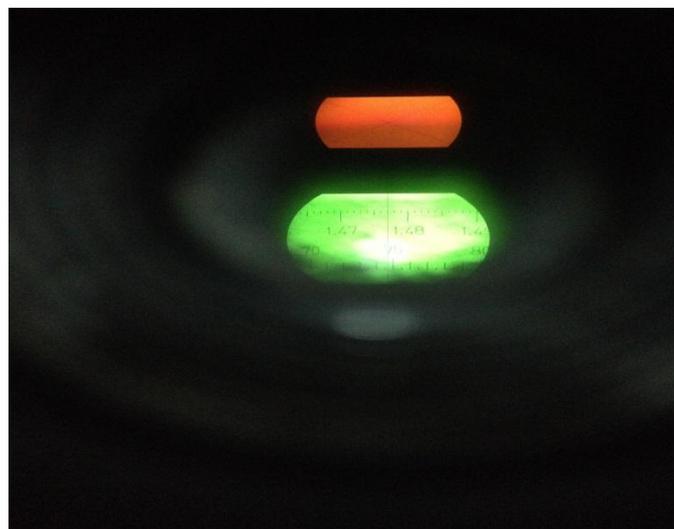


C. Identifikasi minyak atsiri sereh (*Cymbopogon nardus*) dengan sudan II

Lampiran 6. Gambar hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri kemangi dan sereh pada suhu 25°C.



A. Indeks bias minyak atsiri kemangi dengan nilai 1,577



B. Indeks bias minyak atsiri sereh dengan nilai 1,565

Lampiran 7. Hasil pemeriksaan kelarutan dalam alkohol 70%



A. Pemeriksaan kelarutan dalam alkohol 70% minyak atsiri kemangi

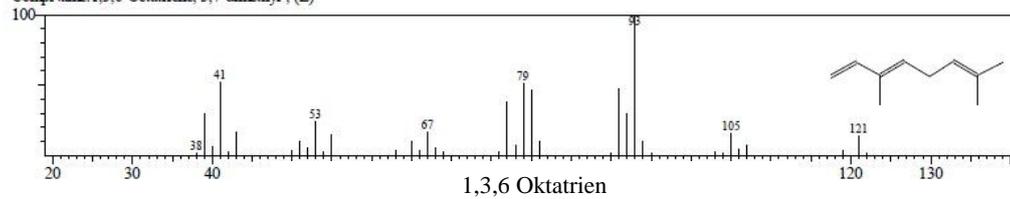


B. Pemeriksaan kelarutan dalam alkohol 70% minyak atsiri serih

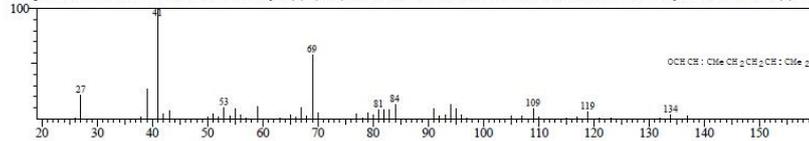
Lampiran 8. Gambar identifikasi Kemangi (*Ocimum basilicum* L. Forma *citratum* Back) secara GCMS

5-Heptana

Hit# 3 Entry:3524 Library:NIST12.LIB
 SI:94 Formula:C10H16 CAS:3779-61-1 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-

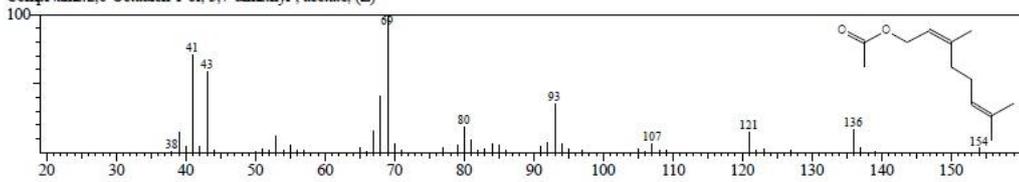


Hit# 1 Entry:29301 Library:WILEY229.LIB
 SI:94 Formula:C10H16O CAS:106-26-3 MolWeight:152 RetIndex:0
 CompName:Z-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) Neral \$\$ beta-Citral \$\$ cis-Citral \$\$ Citral b \$\$ cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal \$\$ (Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal \$\$ citral-b \$\$



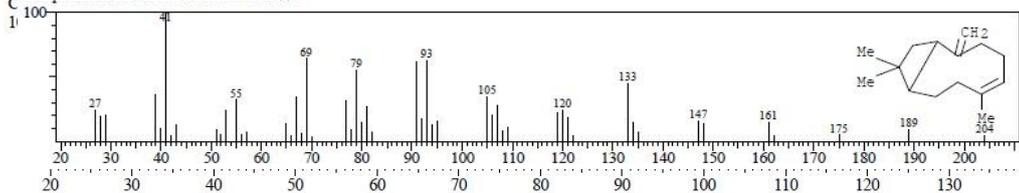
Z-citral

Hit# 2 Entry:7247 Library:NIST12.LIB
 SI:93 Formula:C12H20O2 CAS:141-12-8 MolWeight:196 RetIndex:0
 CompName:2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-



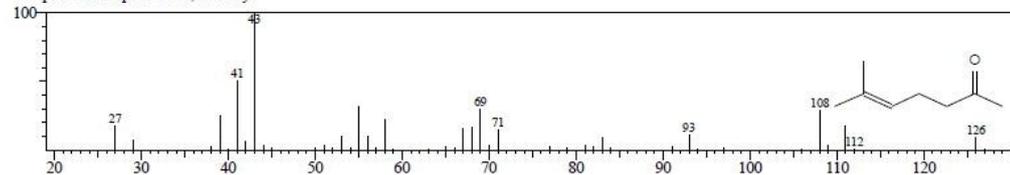
Linalool

Hit# 1 Entry:71237 Library:WILEY229.LIB
 SI:95 Formula:C15H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:beta-CARYOPHYLLENE \$\$

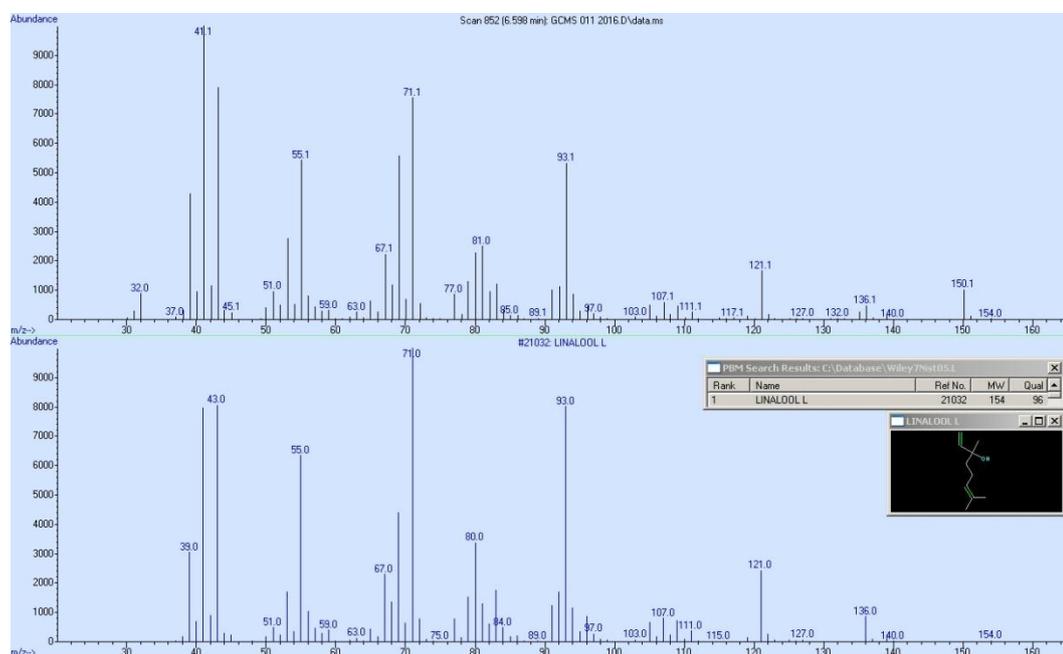
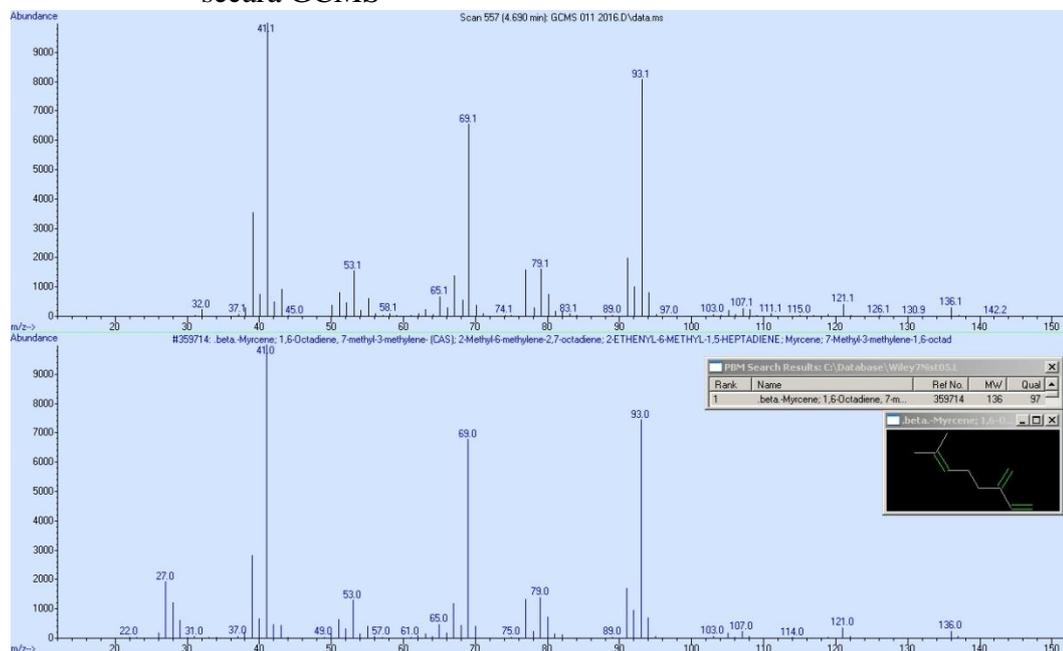


beta-caryophyllene

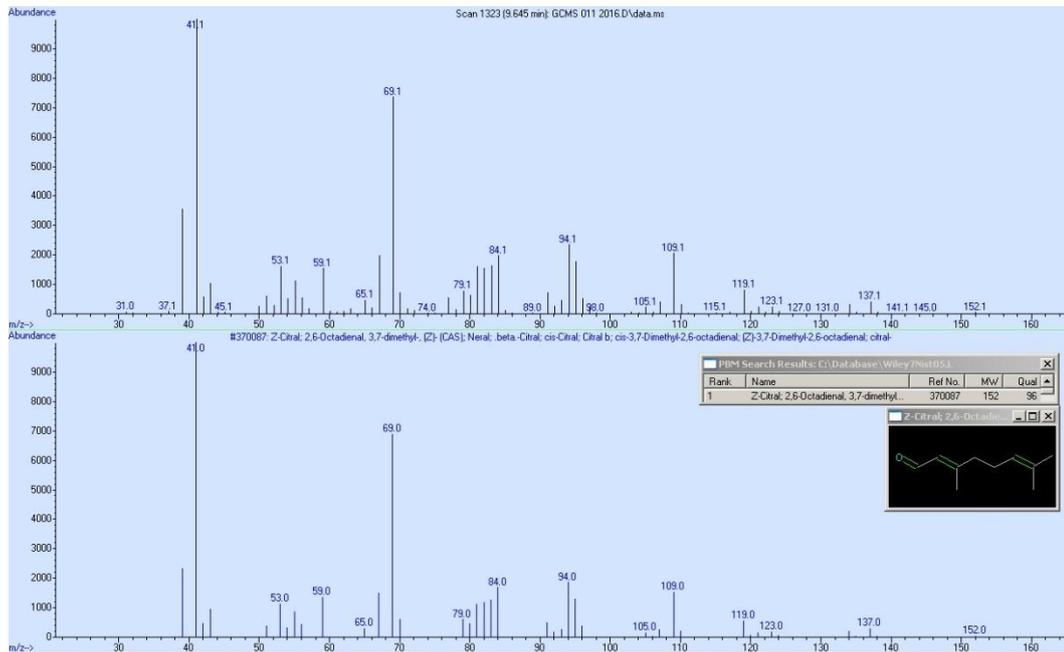
Hit# 5 Entry:2669 Library:NIST12.LIB
 SI:93 Formula:C8H14O CAS:110-93-0 MolWeight:126 RetIndex:0
 CompName:5-Hepten-2-one, 6-methyl-



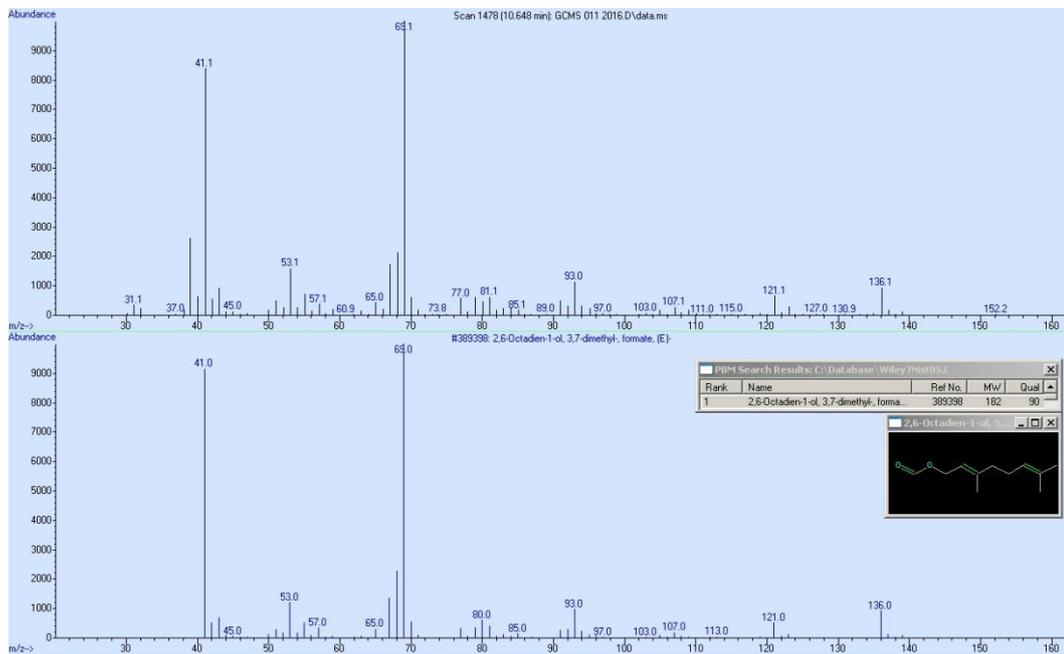
Lampiran 9. Gambar identifikasi Sereh (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) secara GCMS



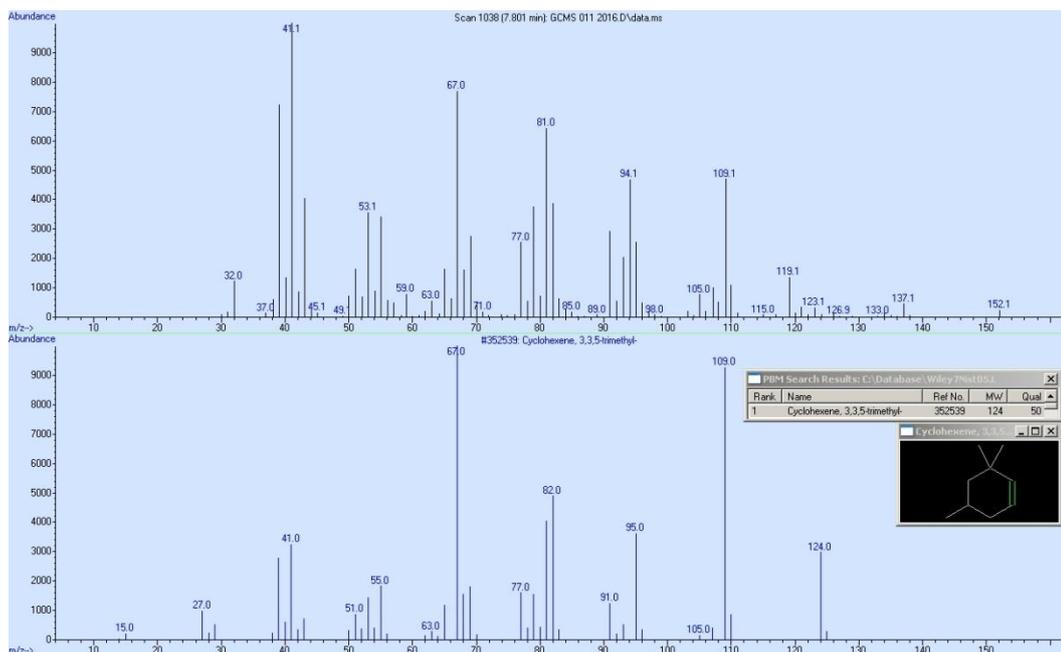
Linalool



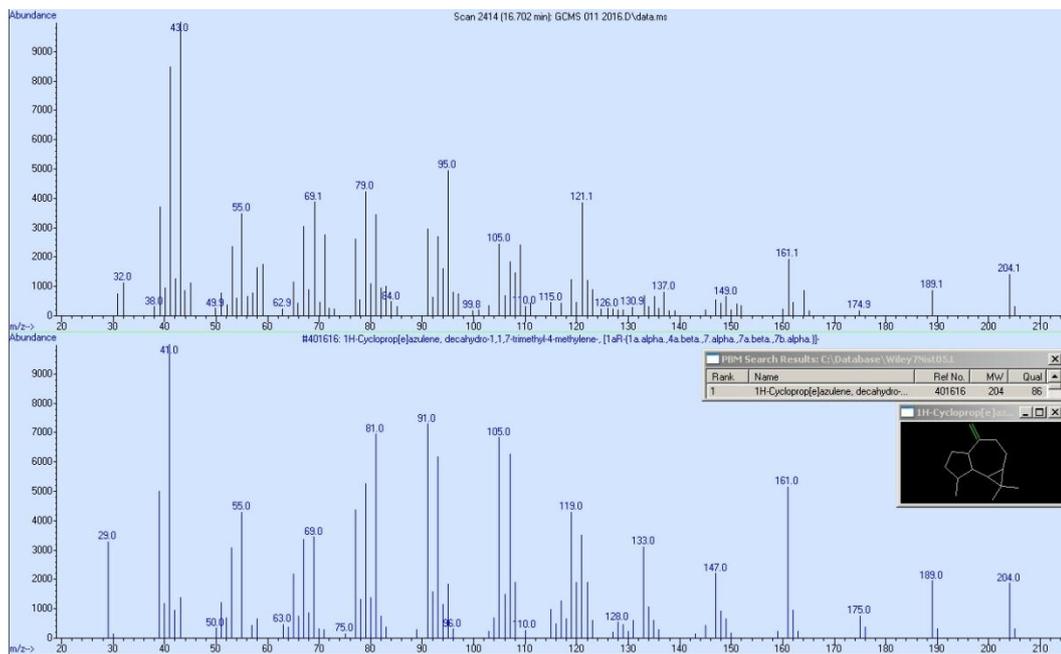
Z-citral



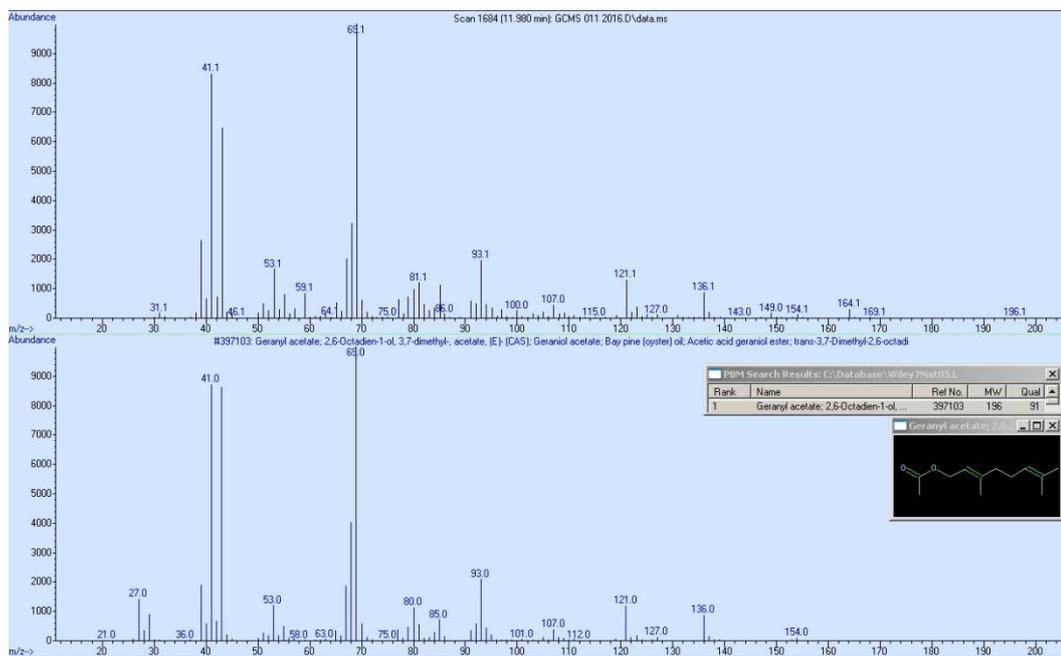
2,6 oktadien



cyclohexene



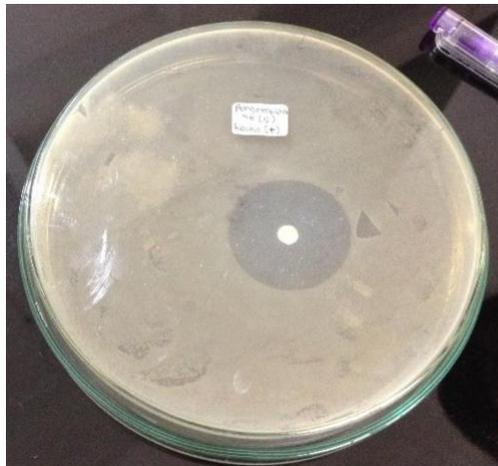
1H-siklopropa (e) ezulena



Geranyl acetate

thylhydr

Lampiran 10. Gambar hasil uji antibiotik kotrimoksazol terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922.



A. Kotrimoksazol dengan pengenceran 1 ml

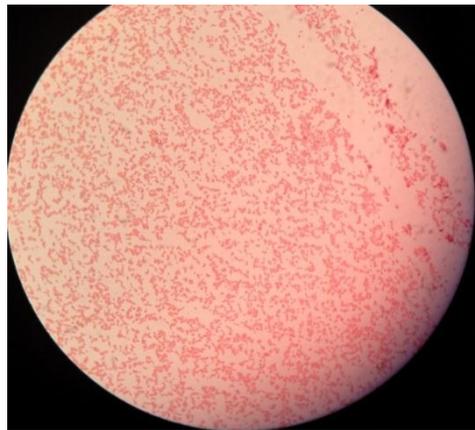
Lampiran 11. Hasil pengujian pada media pertumbuhan.



A. Hasil uji berdasarkan koloni



B. biakan uji biokimia

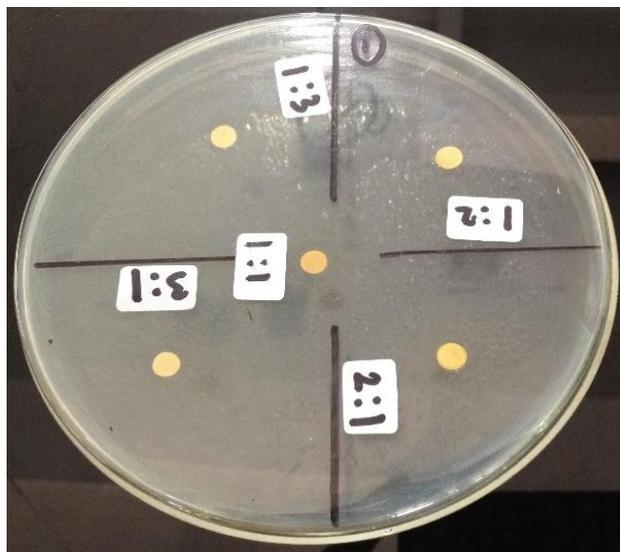


Hasil identifikasi mikroskopik bakteri *Escherichia coli*

Lampiran 12. Gambar hasil kombinasi dan tunggal minyak atsiri daun kemangi dan sereh dengan perbandingan antibiotik kotrimoksazol secara difusi.

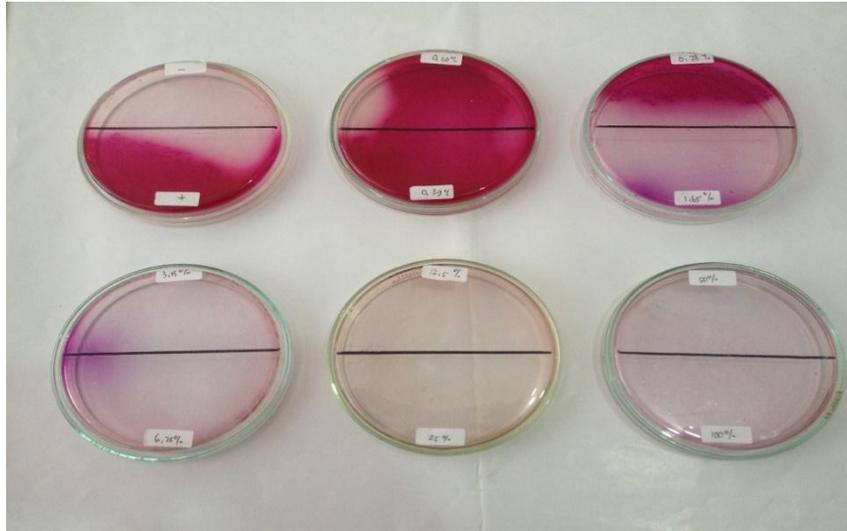


A. Minyak atsiri tunggal daun kemangi sereh dan kotrimoksazol

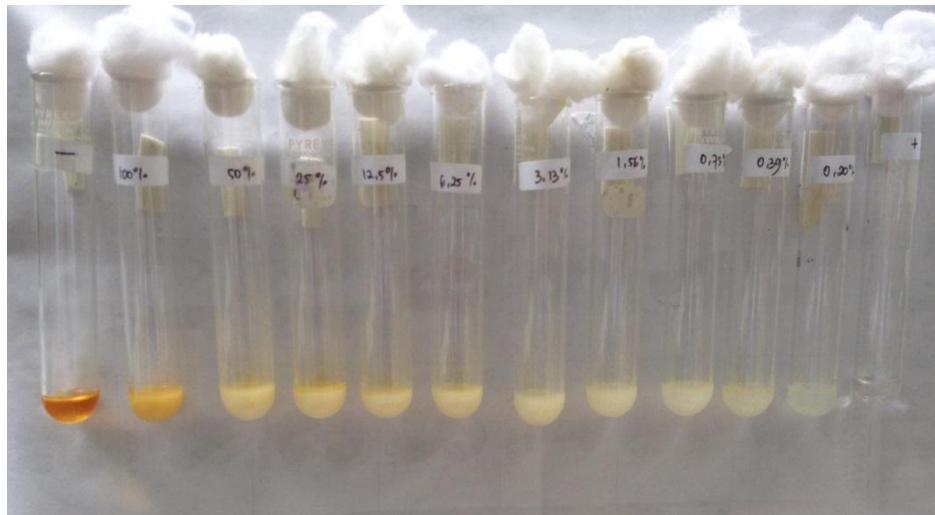


B. Perbandingan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh

Lampiran 13. Gambar pengamatan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) secara dilusi.



A. Hasil kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh secara dilusi.



B. Hasil kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan sereh secara dilusi.

Lampiran 14. Alat-alat yang digunakan**A. Alat pemisah air dan minyak****B. Corong pisah****C. Timbangan gram**

H. Gambar alat GCMS

Lampiran 15. Perhitungan rendemen minyak atsiri

- Sempel kemangi = $\frac{10 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,2 \%$
- Sempel sereh = $\frac{10,4 \text{ ml}}{4000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,26 \%$

Lampiran 16. Perhitungan indeks bias

Indeks bias minyak atsiri pada suhu 25°C	Pustaka
Minyak atsiri daun kemangi 1,577 Minyak atsiri sereh 1,565	Indek bias minyak atsiri daun kemangi (20°C) 1,559-1,597 (Depkes 2006)

- Perhitungan indeks bias minyak atsiri: $1^\circ\text{C} = 0,0004$
- Indek bias teoritis 20°C = $1,559 - 1,595$
- Suhu ruang praktik = 30°C
- Perhitungan = $((30,7 - 20) \times 0,0004 = 0,004$

Jadi indeks bias teoritis pada suhu 30°C

$$((1,559 + 0,004)) - (1,595 + 0,004)) = 1,563 - 1, 591$$

Jadi indek bias menurut praktik minyak atsiri kemangi 1,577 dan minyak atsiri sereh 1,565 sama dengan indek bias menurut pustaka.

Lampiran 16. Perhitungan bobot jenis

Bobot timbang air	Berat minyak (g)		Rata-rata Bobot jenis (%)	
	Kemangi	Sereh	Kemangi	Sereh
36,89	10,25	10,36	1,190	1,203
36,85	9,41	10,42	1,196	1,214
36,79	10,35	9,78	1,199	1,190
		Rata-rata	1,161	1,202

Perhitungan bobot jenis :

$$1. \text{ Bobot jenis kemangi + air} = 36,89$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = 28,25$$

$$\text{Bobot air} = 8,61$$

$$\text{Bobot jenis minyak Atsiri} = \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot Air}}$$

$$= \frac{10,25}{8,61} = 1,190$$

$$2. \text{ Bobot jenis kemangi + air} = 36,89$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = 28,25$$

$$\text{Bobot air} = 8,58$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot Air}} \\ &= \frac{9,41}{8,58} = 1,096 \end{aligned}$$

$$3. \text{ Bobot jenis kemangi + air} = 36,89$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = 28,25$$

$$\text{Bobot air} = 8,63$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot Air}} \\ &= \frac{10,35}{8,63} = 1,199 \end{aligned}$$

Rata-rata bobot jenis minyak atsiri kemangi

$$\frac{1,190 + 1,096 + 1,199}{3} = 0,020$$

$$4. \text{ Bobot jenis sereh + air} = 36,89$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = 28,25$$

$$\text{Bobot air} = 8,61$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot Air}} \\ &= \frac{10,36}{8,61} = 1,203 \end{aligned}$$

$$5. \text{ Bobot jenis kemangi + air} = 36,89$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = 28,25$$

$$\text{Bobot air} = 8,58$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot Air}} \\ &= \frac{10,42}{8,58} = 1,214 \end{aligned}$$

$$6. \text{ Bobot jenis kemangi + air} = 36,89$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = 28,25$$

$$\text{Bobot air} = 8,63$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot Air}} \\ &= \frac{9,78}{8,63} = 1,190 \end{aligned}$$

Rata - rata bobot jenis minyak atsiri sereh

$$= \frac{1,203 + 1,214 + 1,190}{3} = 0,021$$

Jadi bobot jenis minyak atsiri kemangi adalah 1,161%

Jadi bobot jenis minyak atsiri sereh adalah 1,202%

Lampiran 17. Diameter daya hambat minyak atsiri tunggal dan kombinasi dari daun kemangi dan batang sereh dengan metode difusi

Konsentrasi 100%	Diameter daerah hambat (mm)				Rata-rata	SD
	I	II	III	IV		
Kotrimoksazol	28,0	35,0	35,0	30,0	29.50	3.5590
Daun Kemangi	27,0	30,0	26,0	23,0	26.50	2.8868
Batang sereh	26,0	28,0	25,0	28,0	26.75	1.5342
1:1	20,0	21,75	20,0	21,0	20,68	0.8508
1:2	15,0	12,5	15,0	11,0	13,37	1.8287
1:3	19,5	18,0	14,0	14,0	16,37	2.8099
2:1	10,0	17,0	16,0	15,0	14,50	3.1091
3:1	16,0	12,0	16,0	10,75	13,68	2.7185

Kesimpulan diameter kombinasi dari uji difusi minyak atsiri daun kemangi dan sereh terhadap bakteri *Escherichia coli* diameter terbaik ada di konsentrasi 1:1.

Lampiran 19. Penentuan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) kombinasi minyak atsiri (1:1) minyak atsiri kemangi dan sereh terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922

No	X	\bar{x}	$(d = x - \bar{x})$	d^2
1	12,5		4,17	17,388

2	12,5	16,67	4,17	17,388
3	25		8,33	69,388
				Σ 34,721

Dari data diatas, ada satu data yang perlu dicurigai yaitu 25%

Analisa menggunakan rumus sebagai berikut : $\frac{\sqrt{\Sigma(x-\bar{x})^2}}{n-1}$

keterangan : \bar{X} = prosentase

\bar{x} = Rata - rata

SD = standar deviasi

$$SD = \frac{\sqrt{34,721}}{2} = 2,49$$

$$2 SD = 5,88 \text{ dan } \bar{x} = 12,5$$

$$Rata - rata = \frac{12,5 + 12,5}{2} = 12,5$$

Penolakan data bila $(x-\bar{x}) \geq 2 SD$

$(25 - 12,5) = 12,5$ karena $< 2 SD$ maka data diterima.

Jadi konsentrasi bunuh minimum (KBM) bakteri Escherichia coli pada kombinasi (1:1) minyak atsiri kemangi dan sereh pada konsentrasi 12,5%

Lampiran 20. Hasil spss

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter daya hambat	32	20.4844	7.15861	10.00	35.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter daya hambat
N		32
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	20.4844
	Std. Deviation	7.15861
Most Extreme Differences	Absolute	.141
	Positive	.141
	Negative	-.092
Kolmogorov-Smirnov Z		.796
Asymp. Sig. (2-tailed)		.550

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Descriptives

diameter daya hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
kotrimoksazol	4	32.0000	3.55903	1.77951	26.3368	37.6632	28.00	35.00
kemangi	4	26.5000	2.88675	1.44338	21.9065	31.0935	23.00	30.00
sereh	4	26.7500	1.50000	.75000	24.3632	29.1368	25.00	28.00
kombinasi 1:1	4	20.6875	.85086	.42543	19.3336	22.0414	20.00	21.75
kombinasi 1:2	4	13.3750	1.97379	.98689	10.2343	16.5157	11.00	15.00
kombinasi 1:3	4	16.3750	2.80995	1.40498	11.9037	20.8463	14.00	19.50
kombinasi 2:1	4	14.5000	3.10913	1.55456	9.5527	19.4473	10.00	17.00
kombinasi 3:1	4	13.6875	2.71857	1.35929	9.3616	18.0134	10.75	16.00
Total	32	20.4844	7.15861	1.26548	17.9034	23.0653	10.00	35.00

Test of Homogeneity of Variances

diameter daya hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.151	7	24	.077

ANOVA

diameter daya hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1430.148	7	204.307	30.942	.000
Within Groups	158.469	24	6.603		
Total	1588.617	31			

Multiple Comparisons

diameter daya hambat

LSD

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kotrimoksazol	kemangi	5.50000	1.81698	.006	1.7499	9.2501
	sereh	5.25000	1.81698	.008	1.4999	9.0001
	kombinasi 1:1	11.31250	1.81698	.000	7.5624	15.0626
	kombinasi 1:2	18.62500	1.81698	.000	14.8749	22.3751
	kombinasi 1:3	15.62500	1.81698	.000	11.8749	19.3751
	kombinasi 2:1	17.50000	1.81698	.000	13.7499	21.2501
	kombinasi 3:1	18.31250	1.81698	.000	14.5624	22.0626
kemangi	kotrimoksazol	-5.50000	1.81698	.006	-9.2501	-1.7499
	sereh	-.25000	1.81698	.892	-4.0001	3.5001
	kombinasi 1:1	5.81250	1.81698	.004	2.0624	9.5626
	kombinasi 1:2	13.12500	1.81698	.000	9.3749	16.8751
	kombinasi 1:3	10.12500	1.81698	.000	6.3749	13.8751
	kombinasi 2:1	12.00000	1.81698	.000	8.2499	15.7501
	kombinasi 3:1	12.81250	1.81698	.000	9.0624	16.5626
sereh	kotrimoksazol	-5.25000	1.81698	.008	-9.0001	-1.4999
	kemangi	.25000	1.81698	.892	-3.5001	4.0001
	kombinasi 1:1	6.06250	1.81698	.003	2.3124	9.8126
	kombinasi 1:2	13.37500	1.81698	.000	9.6249	17.1251
	kombinasi 1:3	10.37500	1.81698	.000	6.6249	14.1251
	kombinasi 2:1	12.25000	1.81698	.000	8.4999	16.0001
	kombinasi 3:1	13.06250	1.81698	.000	9.3124	16.8126
kombinasi 1:1	kotrimoksazol	-11.31250	1.81698	.000	-15.0626	-7.5624
	kemangi	-5.81250	1.81698	.004	-9.5626	-2.0624

	sereh	-6.06250	1.81698	.003	-9.8126	-2.3124
	kombinasi 1:2	7.31250	1.81698	.000	3.5624	11.0626
	kombinasi 1:3	4.31250	1.81698	.026	.5624	8.0626
	kombinasi 2:1	6.18750	1.81698	.002	2.4374	9.9376
	kombinasi 3:1	7.00000	1.81698	.001	3.2499	10.7501
kombinasi 1:2	kotrimoksazol	-18.62500	1.81698	.000	-22.3751	-14.8749
	kemangi	-13.12500	1.81698	.000	-16.8751	-9.3749
	sereh	-13.37500	1.81698	.000	-17.1251	-9.6249
	kombinasi 1:1	-7.31250	1.81698	.000	-11.0626	-3.5624
	kombinasi 1:3	-3.00000	1.81698	.112	-6.7501	.7501
	kombinasi 2:1	-1.12500	1.81698	.542	-4.8751	2.6251
	kombinasi 3:1	-.31250	1.81698	.865	-4.0626	3.4376
kombinasi 1:3	kotrimoksazol	-15.62500	1.81698	.000	-19.3751	-11.8749
	kemangi	-10.12500	1.81698	.000	-13.8751	-6.3749
	sereh	-10.37500	1.81698	.000	-14.1251	-6.6249
	kombinasi 1:1	-4.31250	1.81698	.026	-8.0626	-.5624
	kombinasi 1:2	3.00000	1.81698	.112	-.7501	6.7501
	kombinasi 2:1	1.87500	1.81698	.312	-1.8751	5.6251
	kombinasi 3:1	2.68750	1.81698	.152	-1.0626	6.4376
kombinasi 2:1	kotrimoksazol	-17.50000	1.81698	.000	-21.2501	-13.7499
	kemangi	-12.00000	1.81698	.000	-15.7501	-8.2499
	sereh	-12.25000	1.81698	.000	-16.0001	-8.4999
	kombinasi 1:1	-6.18750	1.81698	.002	-9.9376	-2.4374
	kombinasi 1:2	1.12500	1.81698	.542	-2.6251	4.8751
	kombinasi 1:3	-1.87500	1.81698	.312	-5.6251	1.8751
	kombinasi 3:1	.81250	1.81698	.659	-2.9376	4.5626
kombinasi 3:1	kotrimoksazol	-18.31250	1.81698	.000	-22.0626	-14.5624
	kemangi	-12.81250	1.81698	.000	-16.5626	-9.0624
	sereh	-13.06250	1.81698	.000	-16.8126	-9.3124
	kombinasi 1:1	-7.00000	1.81698	.001	-10.7501	-3.2499
	kombinasi 1:2	.31250	1.81698	.865	-3.4376	4.0626
	kombinasi 1:3	-2.68750	1.81698	.152	-6.4376	1.0626
	kombinasi 2:1	-.81250	1.81698	.659	-4.5626	2.9376

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.