

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum Sanctum L*)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

FITRIA

165070100111020

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2019

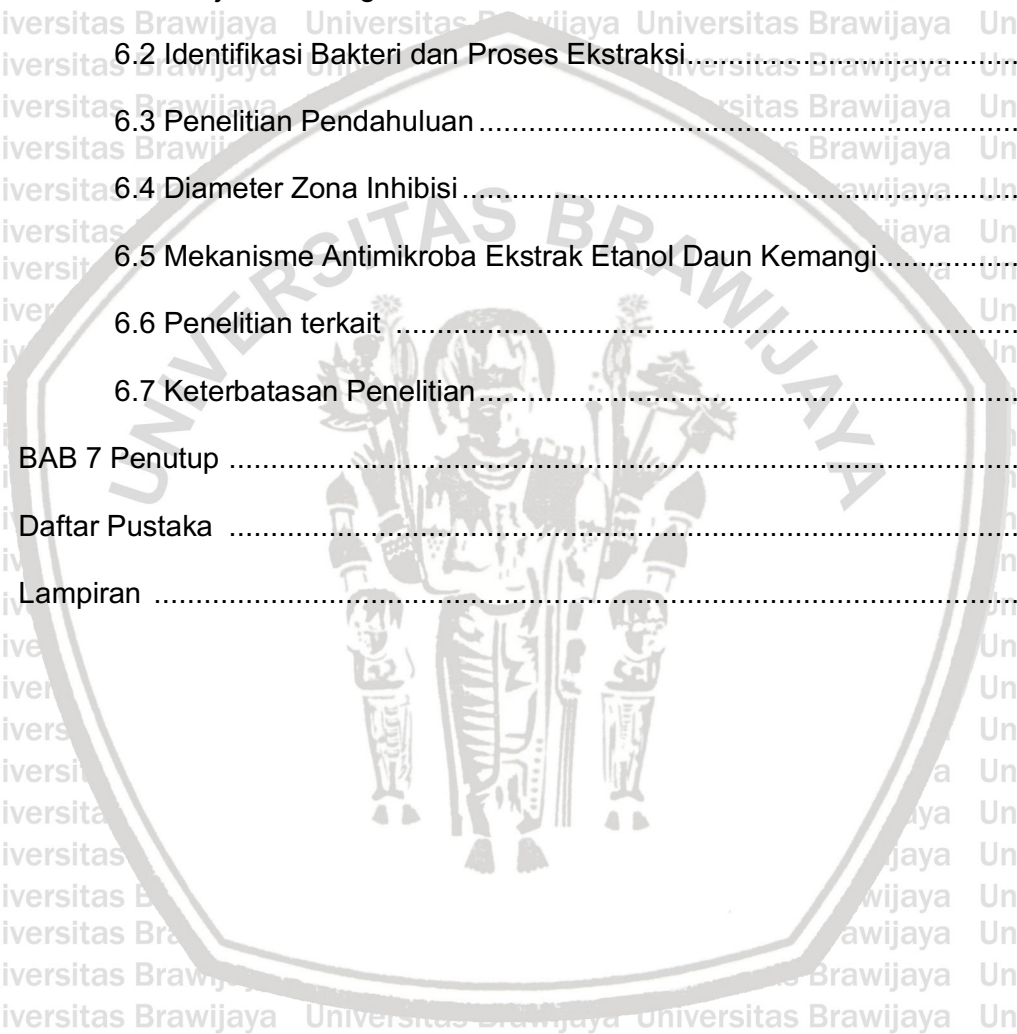
DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv
BAB 1 Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Pendidikan dan Penelitian	4
1.4.2 Bagi Masyarakat	4
BAB 2 Tinjauan Pustaka	5
2.1 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5

2.1.1 Morfologi	5
2.1.2 Karakteristik Pertumbuhan	5
2.1.3 Taksonomi	7
2.1.4 Identifikasi	8
2.1.4.1 Pewarnaan Gram	9
2.1.4.2 Uji Oksidase	9
2.1.4.3 MacConkey Agar	10
2.1.4.4 Nutrient Agar	10
2.1.4.5 Uji Biokimia	11
2.1.5 Infeksi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
2.2 Daun Kemangi	15
2.2.1 Taksonomi	16
2.2.2 Morfologi	17
2.2.3 Kandungan Daun Kemangi	17
2.2.4 Manfaat Daun Kemangi	18
2.2.5 Ekstrak Daun Kemangi	19
BAB 3 Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian	20
3.1 Kerangka konsep	20
3.2 Keterangan kerangka konsep	21
3.3 Hipotesis Penelitian	22
BAB 4 Metode Penelitian	23
4.1 Rancangan penelitian	23
4.2 Lokasi dan waktu penelitian	23
4.3 Sampel Penelitian	23
4.4 Variabel penelitian	24

4.4.1 Variabel tergantung.....	24
4.4.2 Variabel bebas.....	24
4.5 Definisi Operasional.....	25
4.6 Instrumen penelitian.....	26
4.6.1 Alat.....	26
4.6.2 Bahan.....	26
4.6.2.1 Untuk identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
4.6.2.2 Untuk pembuatan ekstrak <i>Ocimum sanctum</i> L.....	27
4.7 Prosedur Penelitian.....	27
4.7.1 Indentifikasi Bakteri.....	27
4.7.1.1 Pewarnaan Gram.....	27
4.7.1.2 Pembenihan pada Agar MacConkey.....	28
4.7.1.3 Tes oksidase.....	29
4.7.1.4 Microbact 12A/12E-24E.....	29
4.7.1.5 Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan 10 ⁸ CFU/ml.....	30
4.7.2 Pembuatan ekstrak etanol <i>Ocimum sanctum</i>	31
4.7.2.1 Proses pengeringan.....	31
4.7.2.1 Proses ekstraksi.....	31
4.7.2.3 Proses evaporasi.....	32
4.7.3 Pengujian Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Kemangi.....	32
4.7.3.1 Metode Difusi Sumuran.....	32
4.7.4 Alur Kerja Penelitian.....	35
4.8 Analisis Data.....	36
BAB 5 Hasil Penelitian.....	37
5.1 Hasil Identifikasi Bakteri.....	37

5.2 Gambaran Ekstrak Daun Kemangi.....	39
5.3 Hasil Uji Sensitifitas Antimikroba.....	40
5.4 Analisis Data.....	43
BAB 6 Pembahasan	47
6.1 Penjelasan Singkat Penelitian.....	47
6.2 Identifikasi Bakteri dan Proses Ekstraksi.....	47
6.3 Penelitian Pendahuluan	48
6.4 Diameter Zona Inhibisi.....	48
6.5 Mekanisme Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Kemangi.....	49
6.6 Penelitian terkait	51
6.7 Keterbatasan Penelitian.....	51
BAB 7 Penutup	52
Daftar Pustaka	54
Lampiran	60



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1 Tabel pencatatan hasil pengukuran diameter.....	34
Tabel 5.1 Hasil Pengukuran dan Perhitungan Zona Inhibisi pada Medium.....	42



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Pewarnaan Gram Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan perbesaran 1000x..... 7

Gambar 2.2 Daun Kemangi 16

Gambar 5.1 (a) Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.... 38

Gambar 5.1 (b) Hasil Uji Oksidase Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*..... 38

Gambar 5.1 (c) Pembenuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Nutrient agar..... 38

Gambar 5.1 (d) Uji Biokimia Vitex *Pseudomonas aeruginosa*..... 39

Gambar 5.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*)..... 39

Gambar 5.3 Hasil Pengamatan Uji Pendahuluan..... 40

Gambar 5.4 Cara Pengukuran Diameter Zona Inhibisi..... 41

Gambar 5.5 Hasil Pengulangan pada 4 Cawan Petri..... 41

Gambar 5.6 Hasil Diameter Zona Inhibisi terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kemangi 41



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Data Statistik Uji Normalitas 60

Lampiran 2 Data Statistik Uji Homogenitas 67

Lampiran 3 Data Statistik Uji ANOVA 68

Lampiran 4 Hasil Uji Oksidase Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 69

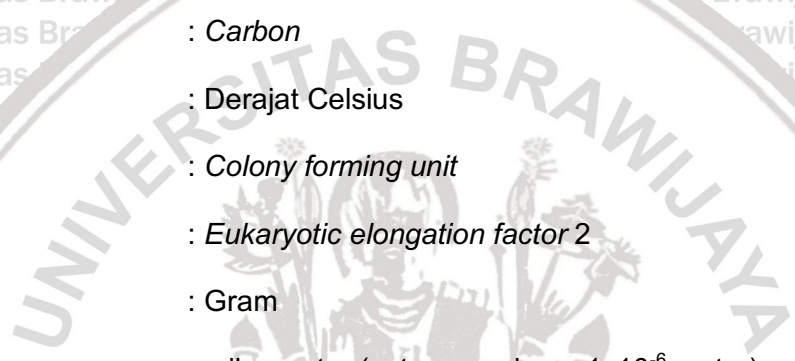
Lampiran 5 Data Statistik Uji Korelasi 71

Lampiran 6 Data Statistik Uji Regresi 72



DAFTAR SINGKATAN

- ADP : Adenosin difosfat
- ANOVA : Analysis of Variance
- ATP : Adenosin Trifosfat
- BNJ : Beda Nyata Jujur
- BSI : Bloodstream Infections
- C : Carbon
- °C : Derajat Celsius
- CFU : Colony forming unit
- EF 2 : Eukaryotic elongation factor 2
- G : Gram
- µm : mikrometer (satuan panjang, 1x10⁻⁶ meter)
- mL : mililiter (satuan volume, 1x10⁻³ Liter)
- N : Nitrogen
- NaCl : Natrium Klorida
- Ocimum sanctum L* : *Ocimum sanctum Linn*
- OD : Optical Density
- P : Nilai Probabilitas atau signifikansi
- P.aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*
- Pseudomonas sp* : *Pseudomonas aeruginosa*
- SPSS : Statistical Product of Service Solution
- UTI : Urinary Tract Infections



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum Sanctum L*)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

Oleh:

Fitria

165070100111020

Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 6 Desember 2019

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Ahmad Bayhaqi Nasir Aslam, Sp. Rad
NIP. 2013098402041001

Pembimbing I/Penguji II

dr. Dewi Erikawati, M.Si
NIP. 198510172009122007

Pembimbing II/Penguji III

dr. Eriko Prawestiningtyas Sp.F
NIP. 197709162005012001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001

ABSTRACT

Fitria. 2019. **Effectiveness Test of Basil Leaf Extract (*Ocimum sanctum L*) on the Growth of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria**. Final Assignment, School of Medicine Brawijaya University. Supervisors: (1)) dr. Dewi Erikawati, M.Si. (2) dr. Eriko Prawestingtyas, Sp. F.

Pseudomonas aeruginosa is a major and dangerous pathogen among the Genus *Pseudomonas*. This bacterium can cause infections in several human organ systems. These bacteria often increase resistance to various types of drugs, so antibiotic products that have high potential as antimicrobials are needed. One of them uses medicinal herbs. In several studies that have proven the content of the composition contained in the leaves of basil (*Ocimum sanctum L*) such as essential oils, flavonoids, and tannins which have antibacterial properties. *Ocimum sanctum L*) against the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Samples were obtained from bacterial isolates provided at the FKUB Microbiology Laboratory. Extract concentrations used consisted of concentrations of 0%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100%. The method is the diffusion method of the well. On the one-way ANOVA test results showed that there was a very significant effect on increasing the concentration of basil leaf extract on the diameter of the zone of growth inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Based on the results of research and discussion, conclusions can be drawn about the ethanol extract of basil leaves (*Ocimum sanctum L*) can inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* at concentrations of 60%, 70%, 80%, 90%, 100%.

Keywords: antimicrobial, Basil leaf (*Ocimum sanctum L*) ethanol extract, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRAK

Fitria. 2019. **Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Dewi Erikawati, M.Si. (2) dr Eriko Prawestiningtyas, Sp. F.

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen terpenting dan berbahaya di antara Genus *Pseudomonas*. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada beberapa sistem organ manusia. Bakteri ini sering mengalami resistensi terhadap berbagai jenis obat, sehingga diperlukan produk pengganti antibiotik yang memiliki potensi tinggi sebagai antimikroba salah satunya adalah menggunakan tanaman obat. Pada beberapa penelitian sudah membuktikan bahwa kandungan senyawa aktif yang terdapat pada Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) seperti minyak atsiri, flavonoid, dan tannin memiliki sifat antibakteri. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sampel diperoleh dari isolat bakteri yang disediakan di Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Konsentrasi ekstrak yang dipakai terdiri dari konsentrasi 0%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Pada hasil uji one-way ANOVA terlihat nilai signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0.05$) yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat signifikan peningkatan konsentrasi ekstrak daun kemangi terhadap diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 60%, 70%, 80%, 90%, 100%.

Kata kunci: antibakteri, ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*), *Pseudomonas aeruginosa*.



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang masih menduduki urutan teratas penyebab penyakit dan kematian pada negara berkembang. Di Indonesia, penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang mudah ditemui di masyarakat. Selain menyebabkan penderitaan fisik, masyarakat juga akan mengalami penurunan produktivitas yang akan berpengaruh kepada pendapatan mereka dan menanggung kerugian yang dikeluarkan berhubungan dengan pengobatan penyakitnya. Sedangkan bagi negara yang tentu akan mengalami penurunan produktivitas nasional secara umum (Wahyono, 2007).

Penyakit infeksi sendiri secara umum patogennya dikategorikan sebagai organisme mikroskopik mencakup bakteri, parasit, fungi, virus, prion, dan viroid. Namun penyakit infeksi akibat bakteri masih mendominasi potensi terjadinya infeksi berat, sepsis, syok septik, dan disfungsi multiorgan. Untuk mengatasi penyakit infeksi akibat bakteri ini dapat digunakan antibiotika, namun kita sadari upaya mengeliminasi bakteri penyebab saja tidak cukup memadai. Itu dikarenakan kemungkinan kurang tepatnya pemberian antibiotika, efek dari berbagai mediator, munculnya resistensi, sitokin yang ikut mempengaruhi laju perjalanan infeksi (Nasronudin, 2007).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen terpenting dan berbahaya di antara Genus *Pseudomonas*. Bakteri ini sering mengalami resistensi terhadap berbagai jenis obat sehingga menyebabkan sulitnya pemilihan antibiotika yang sesuai untuk terapi. Hasil uji kepekaan terhadap antimikroba yang digunakan di RSUD Soetomo Surabaya selama bulan

agustus 2005 sampai februari 2006 menunjukkan sebesar 95,9% isolat

Pseudomonas aeruginosa mengalami resistensi multiobat, dalam hal ini resistensi multiobat dimaksudkan sebagai resistensi terhadap dua atau lebih jenis antimikroba yang berbeda (Lisa, 2007). Uji sensitivitas terhadap antimikroba yang dilakukan di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang pada tahun 2000-2001 menunjukkan bahwa isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang ditemukan pada biakan urin pasien sensitif terhadap golongan sefalosporin, aminoglikosida, dan quinolone dengan kisaran angka kepekaan 86-93%, sedangkan sensitivitas pada golongan antimikroba lainnya masih rendah (Djunaedi, 2001).

Pengobatan dari penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini sendiri memerlukan produk baru yang memiliki potensi tinggi jika bakteri mengalami resistensi. Penelitian mencari zat yang bersifat antibakteri perlu dilakukan sebagai pengganti produk antibiotik yang sudah mengalami resistensi. Zat tersebut idealnya berpotensi menghambat atau membunuh bakteri yang telah resisten antibiotik namun juga memiliki harga yang terjangkau. Salah satu langkah yang dapat ditempuh yaitu dengan menggunakan tanaman obat.

Tanaman obat memang sudah dikenal sejak lama mampu membantu dalam dunia medis karena terkenal akan khasiat yang dimilikinya. Selain harganya yang terjangkau, tanaman obat juga mudah ditemukan oleh masyarakat. Salah satu tanaman obat yang terkenal dengan sifat antibakterinya yaitu daun kemangi/*Ocimum sanctum L* (Nurmashita *et al*, 2015).

Daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) selain digunakan sebagai sayur dan lalap untuk pelengkap makanan, pada beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) memiliki efek antioksidan, antikanker dan antimikroba (Sarah, 2015). Kandungan senyawa aktif yang

terdapat pada daun kemangi antara lain ekstrak etanol sebagai antibakteri (Naibaho, 2013), flavonoid dan tanin sebagai antifungi (Berlian, 2016), serta beta karotene sebagai senyawa antioksidan (Kusuma, 2010). Daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) diketahui dapat mengobati infeksi pada kulit, menghilangkan bau mulut dan bau badan, gangguan pada lambung dan hati, selain itu daun kemangi juga memiliki efek analgesik dan antihiperlipidemia (Baser M,2016).

Berdasarkan dari uraian di atas, untuk meningkatkan pemanfaatan tanaman sebagai obat dan mengefisienkan pengobatan terhadap penyakit infeksi terutama penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* maka penulis akan melakukan penelitian uji efektivitas ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini ditujukan untuk menjawab rumusan masalah sebagai berikut :

Apakah ekstrak daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) mempunyai potensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk menganalisis efek pemberian ekstrak daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Untuk mengetahui perbedaan hasil dari pemberian masing-masing konsentrasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Pendidikan dan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai referensi untuk melakukan penelitian lanjutan tentang daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) yang bisa dijadikan sebagai antimikroba.

1.4.2 Bagi Masyarakat

1. Memberi wawasan kepada masyarakat tentang manfaat ekstrak daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Sebagai solusi alternatif yang aman, murah, dan efektif untuk penanggulangan penyakit yang berhubungan dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri yang berasal dari kelas Gamma proteobacteria. *Pseudomonas* berasal dari gabungan dua kata Yunani yaitu *pseudo* yang berarti palsu dan *monas* yang berarti unit. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik yang memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernafasan, dermatitis, infeksi jaringan lunak, bakteremia, infeksi tulang dan sendi, infeksi saluran pencernaan dan bermacam-macam infeksi sistemik, terutama pada penderita luka bakar berat, kanker, dan penderita AIDS yang mengalami penurunan sistem imun. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* menjadi masalah serius pada pasien rumah sakit yang menderita kanker, fibrosis kistik dan luka bakar (Mayasari, 2006). Bakteri ini menggunakan faktor virulensi eksotoksin A dengan cara kerja yang sama seperti toksin difteri yaitu dengan menghentikan aktivitas pemanjangan Elongation Factor-2 melalui ADP-ribosilasi di dalam sel inang (Kirienko NV, 2013).

2.1.1 Morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,5 - 0,8 x 1,5 - 3,0 µm. Bakteri ini bersifat aerob terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang membentuk rantai yang pendek (Utami, 2012). *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan satu atau

lebih pigmen yang dihasilkan dari asam amino aromatik seperti tirosin dan fenilalanin. Beberapa pigmen tersebut antara lain

- piosianin, pigmen berwarna biru,
- pioverdin, pigmen berwarna kuning
- piorubin, pigmen berwarna merah, dan
- piomelanin, pigmen berwarna cokelat

Piosianin, piorubin, dan piomelanin tidak berfluoresensi serta larut dalam air.

Strain yang tidak menghasilkan piosianin disebut apiosianogenik. Kebanyakan *strain* membentuk koloni halus bulat dengan warna fluoresensi kehijauan, yang merupakan kombinasi pioverdin dan piosianin (Batra, 2018).

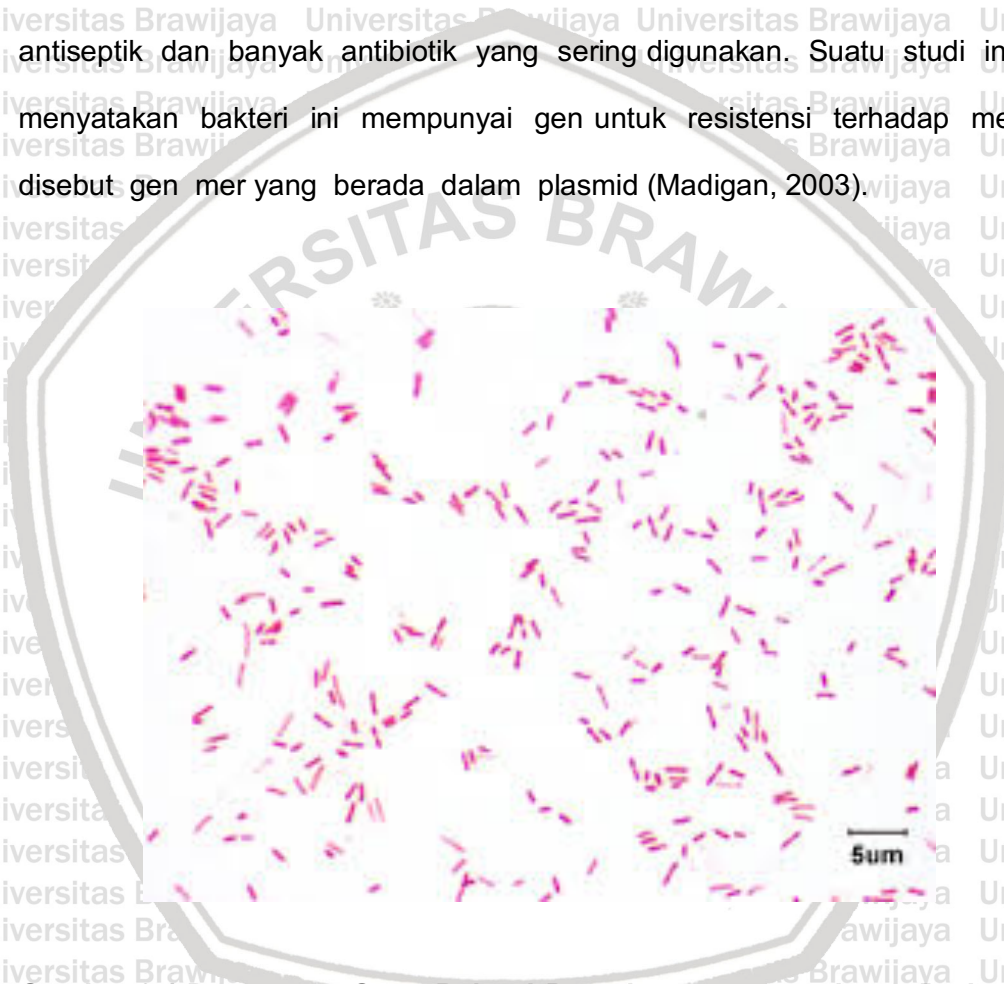
2.1.2 Karakteristik Pertumbuhan

Bakteri ini dapat tumbuh di air suling dan akan tumbuh dengan baik dengan adanya unsur Nitrogen (N) dan Carbon (C). Bakteri ini secara luas dapat ditemukan di alam, contohnya di tanah, air, tanaman, dan hewan. Suhu optimum untuk pertumbuhan *P. aeruginosa* adalah 42^o C. *P. aeruginosa* mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya yang sangat sederhana. Di laboratorium, medium paling sederhana untuk pertumbuhannya digunakan asetat (untuk karbon) dan ammonium sulfat (untuk nitrogen) (Utami, 2012).

Pseudomonas aeruginosa membentuk *biofilm* untuk membantu kelangsungan hidupnya saat membentuk koloni pada paru-paru manusia.

Pseudomonas aeruginosa mensintesis alginat yang merupakan suatu eksopolisakarida polimer dari glucuronic acid dan mannuronic acid, berbentuk gel kental di sekeliling bakteri. Alginat memungkinkan bakteri-bakteri untuk

membentuk biofilm, yaitu kumpulan koloni sel-sel mikroba yang menempel pada suatu permukaan misalnya kateter intravena, atau jaringan paru. Alginat dapat melindungi bakteri dari pertahanan tubuh inang, seperti limfosit, fagosit, silia di saluran pernafasan, antibodi, dan komplemen. *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap konsentrasi tinggi garam dan zat pewarna, antiseptik dan banyak antibiotik yang sering digunakan. Suatu studi intensif menyatakan bakteri ini mempunyai gen untuk resistensi terhadap merkuri, disebut gen mer yang berada dalam plasmid (Madigan, 2003).



Gambar 2.1 Pewarnaan Gram Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Perbesaran 1000x (Kaiser, 2016)

2.1.3 Taksonomi

Pseudomonas aeruginosa merupakan mikroorganisme yang dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Todar, 2004):

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Order : Pseudomonadales

Family : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Species : *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.4 Identifikasi

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif aerob obligat, berkapsul, mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil.

Pseudomonas aeruginosa tidak menghasilkan spora dan tidak dapat menfermentasikan laktosa atau karbohidrat tetapi mampu mengoksidasi glukosa dan silosa. *Pseudomonas aeruginosa* memiliki banyak *strain*, termasuk

Pseudomonas aeruginosa strain PA01, *Pseudomonas aeruginosa* PA7,

Pseudomonas aeruginosa strain UCBPP-PA14, dan *Pseudomonas aeruginosa strain* 2192. Sebagian besar dari mereka diisolasi berdasarkan bau *grape-like*

yang unik dari aminoacetophenone, produksi pyocyanin, dan struktur koloni pada media agar (Roy PH, *et al*, 2010). *Pseudomonas aeruginosa* tidak memiliki

kebutuhan nutrisi yang rumit dan mudah tumbuh dalam media biasa seperti media

Nutrient Agar. Umumnya media Nutrient Agar & MacConkey digunakan untuk budidaya *Pseudomonas aeruginosa* di Laboratorium (Batra, 2018).

2.1.4.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah sebuah metode untuk mengklasifikasikan bakteri menjadi dua kelompok besar yaitu kelompok Gram positif dan kelompok Gram negatif. Pewarnaan Gram merupakan langkah pertama dalam identifikasi awal organisme bakteri. Pewarnaan ini membedakan bakteri melalui sifat kimia dan struktur peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dan akan meninggalkan warna ungu pada saat pewarnaan Gram. Pada pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa* koloni akan tampak berwarna merah muda akibat penambahan safranin, hal ini disebabkan hanya terdapat sedikit peptidoglikan yang dilarutkan oleh alkohol saat pewarnaan Gram (Tankeshwar, 2015).

2.1.4.2 Uji Oksidase

Uji Oksidase merupakan reaksi biokimia yang digunakan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan *cytochrome c* oxidase yang merupakan enzim dari rantai transpor elektron bakteri. Uji oksidase menggunakan reagen tetra-metil-p-fenilendiamin dihidroklorida yang akan dioksidasi oleh *cytochrome c* oxidase. Reagen teroksidasi membentuk senyawa berwarna biru *indophenol*. Bakteri oksidase positif memiliki oksidase sitokrom atau oksidase indofenol (zat besi yang mengandung haemoprotein). Bakteri oksidase negatif tidak memiliki *cytochrome c* oxidase yang mengoksidasi reagen sehingga akan menunjukkan hasil tidak berwarna karena tereduksi. *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil oksidase positif pada uji oksidase (Aryal, 2015).

2.1.4.3 MacConkey Agar

MacConkey agar adalah medium kultur selektif dan diferensial untuk karakterisasi bakteri berdasarkan kemampuan fermentasi laktosa yang sangat penting untuk membedakan *Pseudomonas aeruginosa* dengan bakteri lain yang ada dalam spesimen, terutama bakteri Gram positif dan bakteri dari famili *Enterobacteriaceae*. Komponen yang terkandung di dalam medium ini adalah garam empedu, kristal violet, dan neutral red. Garam empedu dan kristal violet berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Neutral red yang merupakan indikator pH akan menunjukkan warna merah jika pH di bawah 6,8 dan tidak berwarna jika pH di atas 6,8. Organisme yang memfermentasi laktosa dengan demikian akan menghasilkan lingkungan yang asam sehingga neutral red sebagai indikator pH akan menghasilkan warna merah (Leavell, 2007). Pada medium ini koloni *Pseudomonas aeruginosa* tampak berwarna pucat atau tidak berwarna hal ini dikarenakan kurangnya aktivitas fermentasi laktosa (Batra, 2018).

2.1.4.4 Nutrient Agar

Nutrient agar medium adalah salah satu medium kultur bakteri yang dapat digunakan organisme dengan kebutuhan nutrisi sederhana. Nutrient agar medium dapat menumbuhkan beberapa jenis bakteri dan jamur karena mengandung banyak nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Komponen yang terkandung di dalam medium ini antara lain pepton sebagai sumber nitrogen organik untuk pertumbuhan bakteri, ekstrak ragi, agar, natrium klorida (NaCl) yang mempertahankan konsentrasi garam dalam medium agar tekanan osmotik tetap stabil, dan air untuk transportasi berbagai zat di dalam medium (Aryal, 2015). Dalam medium ini *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan warna kehijauan

karena produksi pigmen pyoverdin disertai dengan bau manis yang khas (Batra, 2018).

2.1.4.5 Uji Biokimia

Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan sifat fisiologisnya. Suatu bakteri tidak dapat diidentifikasi hanya berdasarkan sifat morfologisnya saja (Kaiser, 2016). Sistem Microbact Gram negatif adalah sistem mikrosubstrat standar yang dirancang untuk mensimulasikan substrat biokimia konvensional yang digunakan untuk identifikasi bakteri golongan *Enterobacteriaceae* dan bakteri Gram-negatif lainnya.

Identifikasi organisme berdasarkan pH dan pemanfaatan substrat. Microbact gram negatif terdiri dari dua strip media terpisah, 12A dan 12B. Setiap strip terdiri dari 12 substrat biokimia yang berbeda (Oxoid, 2013).

Strip 12A dapat digunakan untuk identifikasi bakteri oksidase negatif, fermenter glukosa nitrat-positif dan mungkin berguna untuk skrining *Enterobacteriaceae* patogenik dari spesimen enterik dan urin atau identifikasi isolat umum lainnya. Strip 12B dapat digunakan bersama dengan strip 12A untuk identifikasi bakteri oksidase-positif, nitrat-negatif, dan glukosa-nonfermenter (MGNB) serta *Enterobacteriaceae*. 12 substrat yang terkandung dalam strip 12A tersedia dalam bentuk lempeng padat, disebut sebagai 12E. Strip 12B dapat digunakan berdampingan dengan 12E, tetapi dalam baki terpisah. Format microplate 24E yang padat berisi 24 substrat yang terkandung dalam kombinasi strip 12A dan 12B. Metode identifikasi organisme dari sistem ini yaitu mengamati perubahan warna dengan atau tanpa penambahan reagen yang ditranskripsikan ke dalam kode numerik lalu diidentifikasi melalui daftar profil bakteri berbasis

komputer. Diantara beberapa bakteri gram negatif, *Pseudomonas aeruginosa* secara baik diidentifikasi oleh microbact 12A/12E (Khan, 2018)

2.1.5 Infeksi *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah penyebab paling umum infeksi luka bakar dan otitis eksterna (infeksi telinga luar). *Pseudomonas sp* dapat menginfeksi sistem jaringan atau organ apa pun pada inang dengan kondisi *immunocompromised*. Penyakit yang dihasilkan akan tergantung pada sistem organ yang terinfeksi. *Pseudomonas aeruginosa* biasanya tidak dapat menginfeksi orang dengan kondisi tubuh yang sehat. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan penyebab umum infeksi pada pasien di rumah sakit. Selain itu *Pseudomonas sp* dapat menginfeksi sistem organ yang berbeda pada manusia (Roosjen, 2006).

Pseudomonas aeruginosa menghasilkan eksotoksin A yang merupakan faktor virulensi. Eksotoksin ini menginaktivasi Adenosin difosfat (*ADP*) *ribosylate eukaryotic elongation factor 2 (EF 2)* dan dengan demikian mengganggu sintesis protein yang menyebabkan kematian sel. *Pseudomonas aeruginosa* juga menghasilkan exoenzyme "Exo U" yang merusak membran sel yang menyebabkan lisis dan kematian sel. Dilaporkan bahwa tingkat fosfat yang rendah dalam usus manusia mengaktifkan *Pseudomonas aeruginosa* bersimbiotik untuk menghasilkan racun mematikan di dalam saluran usus yang dapat menyebabkan kerusakan. Faktor risiko terpenting untuk infeksi *Pseudomonas aeruginosa* adalah kondisi pasien dengan *immunocompromised*. *Pseudomonas sp* bersifat invasif dan toksinogenik, infeksiya melibatkan tiga langkah yaitu kolonisasi, invasi lokal, dan penyakit sistemik diseminata (Delden, 2004).

Infeksi *Pseudomonas sp* dapat bersifat dari dalam tubuh manusia (endogen) ataupun dari (eksogen). *Pseudomonas aeruginosa* memiliki suatu struktur berbentuk pili yaitu adhesin yang mana melekat pada reseptor galaktosa atau manosa atau asam sialat tertentu pada sel-sel epitel mukosa saluran pernapasan atas dan lain-lain. Produksi enzim protease oleh bakteri memecah fibronektin dan mengekspos reseptor spesifik pilus pada permukaan sel epitel.

Kerusakan jaringan yang disebabkan oleh infeksi virus atau keadaan lainnya akan memberikan potensi kepada *Pseudomonas sp* untuk berkolonisasi (Nios, 2012)

Pseudomonas aeruginosa menghasilkan enzim dan racun yang digunakan untuk merusak sistem kekebalan tubuh inang dan menghindari fagositosis. Lendir polisakarida dan semacam kapsul palsu yang diproduksi oleh *Pseudomonas sp* secara efektif melindungi sel dari opsonisasi oleh antibodi, deposisi komplemen, dan penumpukan fagosit. Protease elastase dan alkalin menghancurkan substansi dasar kornea dan struktur lainnya yang tersusun dari fibrin dan elastin yang mengakibatkan invasi dan cedera. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan tiga protein terlarut lainnya yang terlibat dalam invasi cytotoxin (mw 25 kDa) dan dua hemolisin. Cytotoxin adalah protein pembentuk pori. Awalnya bernama leukocidin karena efeknya pada neutrofil, tetapi tampaknya menjadi sitotoksik untuk sebagian besar sel eukariotik. Dari dua hemolysin, satu adalah fosfolipase dan yang lainnya adalah lecithinase yang bertindak secara sinergis untuk memecah lipid dan lesitin (Nios, 2012). Pigmen pyocyanin merusak fungsi normal silia hidung manusia dan mengganggu epitelium pernapasan.

Sehingga dapat diketahui bahwa *Pseudomonas aeruginosa* memiliki beragam struktur yang terdiri dari pil, enzim, kapsul, dan pigmen untuk berkembang di dalam jaringan manusia dan menghasilkan efek berbahaya (Roosgen, 2006).

Penyakit yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* meliputi (Friedrich 2017):

1. Infeksi pernapasan: Pneumonia pada pasien kanker neutropenia yang menjalani kemoterapi, pneumonia bronkus difus, infeksi pada pasien fibrosis kistik
2. Bakteriemia dan septikemia : *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif yang terdapat pada pasien *immunocompromised* dan luka bakar parah. 25% pasien dengan *bloodstream infections (BSI)* disebabkan oleh *Pseudomonas sp.*
3. Infeksi telinga : *Pseudomonas sp* biasanya menyebabkan otitis eksterna.
4. Infeksi sistem saraf pusat : *Pseudomonas sp* dapat menyerang meninges dari dekat melalui struktur telinga eksternal atau sinus paranasal setelah prosedur invasif atau trauma pada kepala.
5. Infeksi saluran kemih: *Pseudomonas sp* biasanya menyebabkan infeksi saluran kemih pada pasien yang berada di rumah sakit dengan kateterisasi saluran kemih dan pembedahan. *Pseudomonas aeruginosa* adalah penyebab utama ketiga (12%) dari semua *Urinary Tract Infections (UTI)* yang terdapat di rumah sakit.
6. Endokarditis: *Pseudomonas aeruginosa* menjadi penyebab infeksi pada katup jantung yang rusak dan katup jantung prostetik.
7. Infeksi tulang dan sendi : *Pseudomonas aeruginosa* penyebab infeksi tulang dan sendi dengan inokulasi langsung serta dapat menyebabkan osteomyelitis kronis dari inokulasi tulang secara langsung. *Pseudomonas sp* juga menyebabkan osteochondritis setelah luka tusukan pada kaki.

8. Infeksi gastrointestinal: Setiap bagian dari sistem gastrointestinal dapat terinfeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* pada pasien kondisi *immunocompromised*. Penyakit yang dihasilkan yaitu diare, gastroenteritis, infeksi perirectal. Kadang-kadang *Pseudomonas aeruginosa* dapat menghasilkan enterokolitis nekrosis.

9. Infeksi kulit dan jaringan lunak, termasuk infeksi luka, pioderma dan dermatitis: Setiap bagian dari kulit dan jaringan lunak yang pernah terkena trauma, luka bakar, kebersihan yang buruk dapat terinfeksi oleh *Pseudomonas sp.* Infeksi yang disebabkan termasuk folikulitis, acne vulgaris dan abses

2.2 Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*)

Tanaman herba ini awalnya diperkenalkan di India dengan sebutan tulsi. Karena efeknya yang dinilai sangat menguntungkan, sekarang tanaman ini telah menyebar di seluruh dunia, termasuk Indonesia (Cohen, 2014). Di setiap daerah kemangi memiliki nama khusus. Kemangi dikenal dengan nama daerah Saraung (Sunda), Lampes (Jawa Tengah), Kemangek (Madura), uku-uku (Bali), Lufe-lufe (Ternate), Hairy basil (Inggris) (Apriyanti, 2016). Kemangi adalah spesies basil yang paling terbesar di seluruh dunia, baik dalam bentuk segar ataupun untuk produksi minyak esensial. Diantara genus *Ocimum L*, kemangi merupakan salah satu spesies yang menarik karena aroma dan rasanya. Herbal ini digunakan oleh orang Asia sebagai obat dan bahan masakan dari generasi ke generasi. Minyak dari tumbuhan ini juga digunakan secara luas pada industri farmasi dan industri parfum (Kicel, 2005).

2.2.1 Taksonomi

Dau kemangi merupakan tanaman yang dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 2002):

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Sub divisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Ordo : Tubiflorae
- Famili : Lamiaceae
- Genus : *Ocimum*
- Species : *Ocimum sanctum*



Gambar 2.2 Daun Kemangi (Tjitrosoepomo, 2002)

2.2.2 Morfologi

Tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis ini merupakan herba tegak atau semak, tajuk membulat, bercabang banyak, sangat harum dengan tinggi 0,3 -1,5 m. Batang pokoknya tidak jelas, berwarna hijau sering keunguan, dan berambut atau tidak. Daun tunggal, berhadapan, dan tersusun dari bawah ke atas. Panjang tangkai daun 0,25 -3 cm dengan setiap helaian daun yang berbentuk bulat telur sampai elips, memanjang, dan ujung meruncing atau tumpul. Pangkal daun pasak sampai membulat, di kedua permukaan berambut halus. Tepi daun bergerigi lemah, bergelombang, atau rata (Sudarsono *et al*, 2002).

2.2.3 Kandungan Daun Kemangi

Beberapa bahan kimia yang terkandung pada seluruh bagian tanaman kemangi diantaranya 1,8 sineol, anthol, apigenin, stigmaasterol, triptofan, tannin, sterol, dan boron (Hariana, 2007; Dharmayanti, 2007). Tanaman ini juga mengandung asam askorbat, asam kafeat, inkulin, histidin, magnesium, dan betasitosterol. Semua senyawa berkhasiat ini diperlukan tubuh untuk menjaga kesehatan (Avianto, 2007).

Daun kemangi mengandung minyak atsiri dengan eugenol sebagai komponen utama. Di samping itu juga mengandung flavon apigenin, luteolin, flavon O-glikosida apigenin 7-O glukoronida, luteolin 7-O glukoronida, flavon C -glukosida orientin, molludistin dan asam ursolat. Sedangkan pada daun kemangi sendiri, penelitian fitokimia telah membuktikan adanya flavonoid, glikosid, asam gallic dan esternya, asam caffeic, dan minyak atsiri yang mengandung eugenol (70,5%) sebagai komponen utama (Sudarsono *et al*, 2002).

Minyak atsiri dari daun kemangi memiliki efek antimikrobiologi yaitu efek melawan bakteri serta jamur lainnya. Efek tersebut diperankan oleh eugenol dan methyl eugenol yang menunjukkan reaksi yang positif. Oleh karena itu infeksi bakteri dan jamur kulit dapat diobati dengan jus daun kemangi. Ekstrak cair daun kemangi menunjukkan efek hipotensi dan dapat menghambat kontraksi otot halus yang dirangsang oleh asetilkolin, karbakol, dan histamin (Kusuma, 2004).

2.2.4 Manfaat Daun Kemangi

Beberapa penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa daun kemangi memiliki potensi terapeutik untuk manusia. Senyawa yang terkandung di dalam batang dan daun kemangi yaitu seperti flavonoid, tannin, saponin, dan fenol memiliki aktivitas antidiabetes, antijamur, antimikroba, antioksidan, anti inflamasi dan kardio protektif (Pattanayak *et al*, 2010). Oleh karena itu ekstrak daun kemangi dapat digunakan untuk mengobati demam, batuk, sesesma, encok, urat syaraf, air susu yang kurang lancar, sariawan, panu, radang telinga, muntah-muntah dan mual, peluruh kentut, peluruh haid, pembersih darah setelah bersalin, borok, dan untuk memperbaiki fungsi lambung (Sudarsono *et al*, 2002).

Pada bagian biji tanaman kemangi dapat digunakan untuk mengatasi sembelit, kecing nanah, penyakit mata, borok, penenang, pencahar, peluruh air kencing, peluruh keringat, kejang perut. Akar digunakan untuk mengobati penyakit kulit. Semua bagian tanaman digunakan sebagai pewangi, obat perangsang, disentri, dan demam (Sudarsono *et al*, 2002).

2.2.5 Ekstrak Daun Kemangi

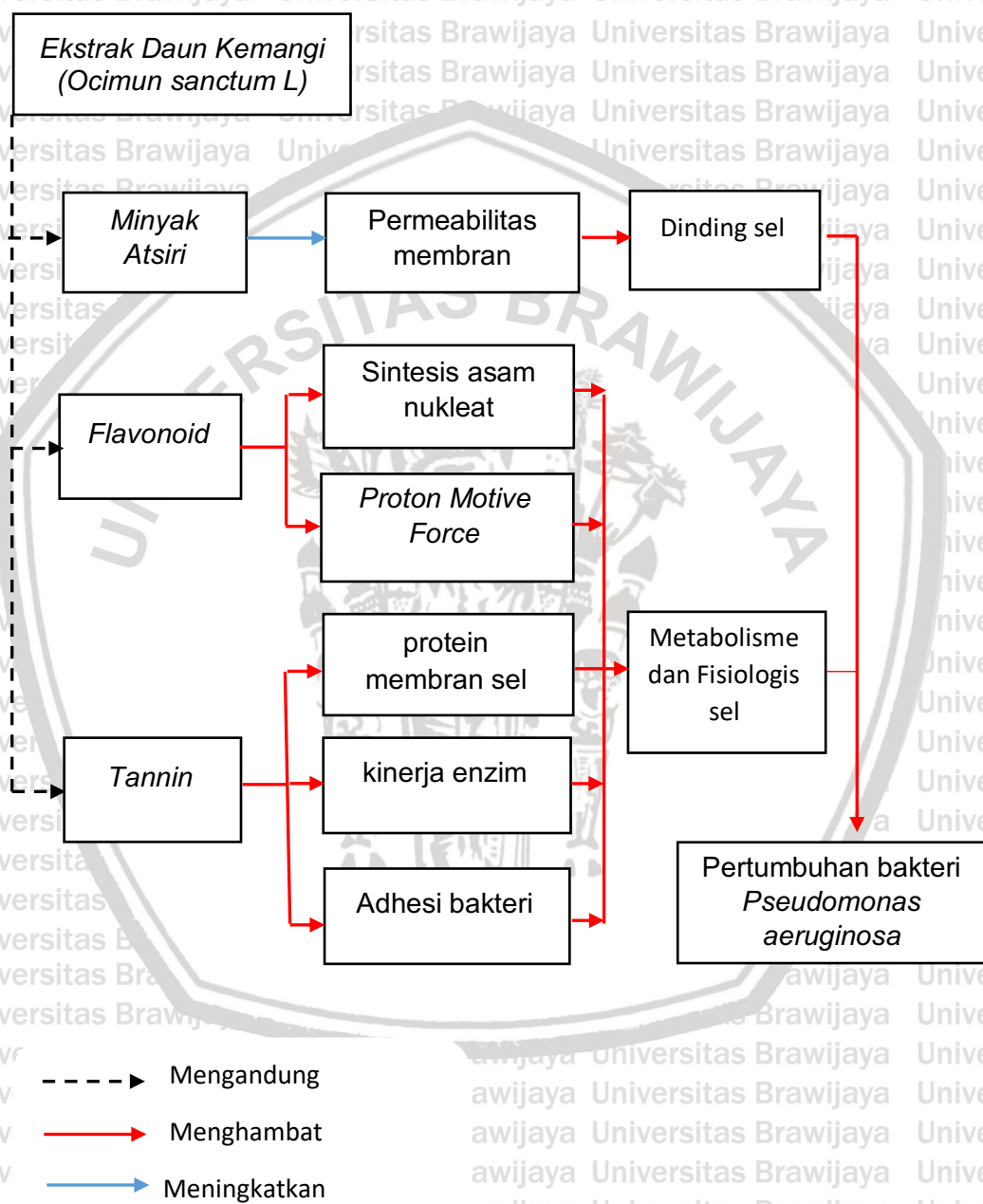
Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair yang dibuat dengan cara mengambil senyawa tertentu baik nabati atau hewani menggunakan suatu pelarut dengan metode yang cocok di luar pengaruh cahaya matahari. Metode pembuatan ekstrak yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna. Metode soxhletasi merupakan metode ekstraksi menggunakan cara panas yaitu pemisahan senyawa pada tanaman dengan cara penyaringan berulang menggunakan pelarut tertentu. Metode maserasi yaitu dilakukan dengan cara merendam serbuk dengan pelarutnya selama semalam pada suhu kamar. Sedangkan metode perkolasi mirip dengan metode maserasi yaitu merendam serbuk selama semalam dengan pelarutnya lalu dialiri dengan pelarut yang selalu baru (Ghina *et al*, 2017).

Menurut Eswar (2016) proses ekstraksi etanol daun kemangi menggunakan metode ekstraksi dingin, karena senyawa flavonoid pada daun kemangi tidak tahan terhadap pemanasan selain itu untuk mengurangi penguraian senyawa pada tanaman. Metode ekstraksi maserasi tidak melalui proses pemanasan dengan prosedur dan peralatan yang digunakan cukup sederhana (Heinrich, 2004). Daun kemangi yang sudah dikeringkan dan menjadi bubuk halus akan dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 3x dalam suhu kamar. Larutan yang didapat akan disaring lalu diuapkan menggunakan rotaevaporator sehingga akan dihasilkan sebuah ekstrak daun kemangi (Ismiyati & Nurhaeni, 2016).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Bagan 3.1 Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian

3.2 Keterangan Kerangka Konsep

Ekstrak daun kemangi memiliki beberapa senyawa penting yang diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri. Beberapa senyawa metabolit yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun kemangi yaitu tannin, flavonoid, dan minyak atsiri (Angelina *et al*, 2015). Aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kandungan senyawa ekstrak antibakteri, konsentrasi ekstrak yang diberikan, dan jenis bakteri yang akan dihambat (Brooks *et al*, 2007). Minyak atsiri akan menyebabkan kerusakan dinding sel dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel akibat bereaksi dengan fosfolipid (Nurmasitha *et al*, 2015). Senyawa flavonoid bekerja sebagai antibakteri melalui dua mekanisme yaitu menghambat sintesis asam nukleat dan menyebabkan gangguan *proton motive force*. *Proton motive force* merupakan sebuah proses dimana proton akan mengkonversikan energi untuk pembentukan Adenosin Trifosfat (ATP) (Cushnie, 2005). Sebagai antibakteri, senyawa tannin akan menghambat kinerja enzim, menonaktifkan adhesin bakteri serta akan menyebabkan denaturasi protein dengan membentuk ikatan kompleks dengan protein melalui ikatan hydrogen (Rahman *et al*, 2017). Sehingga dengan adanya senyawa flavonoid dan tannin akan menyebabkan gangguan fungsi fisiologis dan metabolisme bakteri (Cushnie, 2005).

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah *true eksperimental Pseudomonas aeruginosa* dengan desain *post-test only control group experimental* untuk mengetahui pengaruh antimikroba ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Prosedur penelitian menggunakan metode difusi sumuran untuk menentukan zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dari bulan Agustus sampai September 2019.

4.3 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dan sampel bakteri uji yang digunakan pada penelitian adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Jumlah pengulangan penelitian ini menggunakan rumus Federer sebagai berikut :

$$(p-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5n - 6 \geq 15$$

$$5n \geq 21$$

$$n \geq 4,2$$

$$n \approx 4$$

Keterangan:

n = jumlah pengulangan (4 kali pengulangan)

p = jumlah perlakuan (dosis ekstrak daun kemangi): 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% = 6 perlakuan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka besar sampel atau pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini paling sedikit adalah 4.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung adalah variabel yang dipikirkan sebagai akibat atau keadaannya tergantung dari variabel lain. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah efektivitas ekstrak etanol *Ocimum sanctum L* sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dinilai diameter zona inhibisi ekstrak etanol *Ocimum sanctum L* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

4.5 Definisi Operasional

1. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri batang Gram negatif yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya Malang. Isolat akan diidentifikasi ulang sebelum dilakukan penelitian.

2. Standar kepadatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 10^8 CFU/mL
3. Daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) yang dipakai untuk penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Polinema, Malang
4. Ekstrak etanol *Ocimum sanctum L* adalah daun kemangi yang telah dikeringkan dan diekstraksi dengan metode maserasi dan evaporasi menggunakan etanol 96%
5. Uji efektivitas ekstrak etanol sebagai antimikroba dinilai dengan pengujian zona inhibisi menggunakan metode sumuran
6. Zona inhibisi adalah zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Zona inhibisi menunjukkan bahwa bahan antimikroba dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin lebar zona inhibisi, semakin rentan bakteri tersebut terhadap ekstrak daun kemangi. Zona inhibisi diukur dengan menggunakan penggaris.
7. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah kelompok yang diberikan ekstrak *Ocimum sanctum L* dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.
8. Kontrol adalah lubang sumuran yang tidak diberi ekstrak daun kemangi (yang dianggap sebagai 0%)

4.6 Instrumen Penelitian

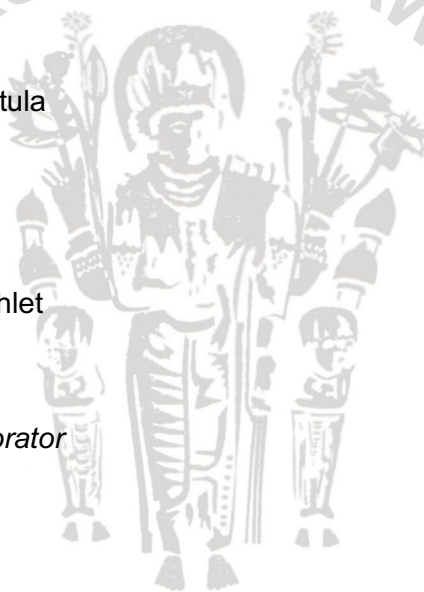
4.6.1 Alat

1. *Object glass*
2. *Ose*
3. *Bunsen burner*
4. *Disc/Plate* kosong steril
5. Korek api
6. *Vortex*
7. *Incubator*
8. Mikroskop Spatula
9. Nampan
10. Timbangan
11. Ekstraktor Soxhlet
12. Waterbath
13. *Rotatory evaporator*
14. Cawan petri
15. Mikropipet
16. Spektrofotometer
17. Penggaris
18. Microbact 12A/12E-24E Kit

4.6.2 Bahan

4.6.2.1 Untuk Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

- a. *Nutrient* agar medium
- b. *MacConkey* Agar medium
- c. Kristal violet



d. Lugol

e. Alkohol 96%

f. Safranin

g. Aquadest

h. Minyak imersi

i. Oxidase strip

j. Kertas penghisap

k. Tusuk gigi

4.6.2.2 Untuk Pembuatan Ekstrak Etanol *Ocimum sanctum L*

a. Daun kemangi

b. Etanol 96%

c. Air pendingin

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Identifikasi Bakteri

4.7.1.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui *Pseudomonas aeruginosa*

termasuk bakteri Gram positif atau Gram negatif. Prosedur pewarnaan

Gram, yaitu (Brooks *et al*, 2010):

1. Membersihkan gelas obyek menggunakan kapas steril, kemudian dilewatkan di atas api lalu dibiarkan dingin
2. Menggambar lingkaran dibawah gelas obyek menggunakan spidol sebagai area untuk pengolesan sampel bakteri
3. Ose difiksasi dengan cara dibakar sampai ose berpijar

4. Mengambil koloni *Pseudomonas aeruginosa* dengan ose dari Nutrient Agar lalu dioleskan ke gelas obyek di area yang sudah diberi lingkaran dengan spidol permanen.
5. Menunggu sediaan sampai kering, lalu difiksasi di atas api bunsen, dengan mengayunkan sebanyak 3-5 kali
6. Meneteskan kristal violet di atas kaca benda, lalu ditunggu selama 1 menit, bilas dengan akuades
7. Meneteskan lugol di atas kaca benda, lalu ditunggu selama 1 menit, bilas dengan akuades
8. Meneteskan alkohol 96% di atas kaca benda, lalu ditunggu 5-10 detik, bilas dengan akuades
9. Meneteskan safranin di atas kaca benda, lalu ditunggu selama 30 detik, bilas dengan akuades
10. Mengeringkan sediaan dengan kertas penghisap
11. Mengamati sediaan dibawah mikroskop dengan perbesaran total dari terkecil yaitu 100x, 400x, dan terbesar 1000x menggunakan minyak imersi
12. Mengamati adanya bakteri dengan bentuk batang dan bewarna merah yang menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* termasuk bakteri batang Gram negatif.

4.7.1.2 Perbenihan pada Agar MacConkey

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasi pada medium agar MacConkey dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya, diamati apakah terjadi perubahan warna pada media

agar. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* tampak berwarna pucat yang berarti tidak memfermentasikan laktosa (Batra, 2018).

4.7.1.3 Tes Oksidase

Prosedur tes oksidase menggunakan metode kertas saring adalah sebagai berikut (Tankeshwar, 2012):

1. Basahi kertas saring menggunakan reagen *tetramethyl p-phenylenediamine dichloride* 1%.
2. Mengambil koloni yang akan diidentifikasi menggunakan ose, lalu oleskan pada kertas saring.
3. Amati perubahan warna pada kertas selama 10-30 detik. Warna ungu-hitam menunjukkan oksidase positif.
4. *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil oksidase positif

4.7.1.4 *Microbact* 12A/12E-24E

Uji biokimia menggunakan *Microbact* 12A meliputi beberapa prosedur uji antara lain (Oxoid, 2013):

1. Koloni bakteri hasil uji oksidase menunjukkan oksidase positif, jika hasil oksidase positif menggunakan *microbact system* 24E.
2. Satu koloni bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan ke dalam 3-5 ml NaCl 0,9% dalam tabung reaksi steril hingga homogen.
3. Larutan bakteri yang telah homogen dimasukkan ke dalam sumur *Microbact* sebanyak 100 μ L atau 4 tetes. Untuk sumur arginine ditambahkan larutan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Setelah itu, *Microbact* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

4. *Microbact* yang telah diinkubasi kemudian diberikan *reagent* Nitrat A dan B pada sumur nomor 7 dan *indol kovact* sebanyak 2 tetes pada sumur 8, sumur nomor 10 dengan VP I dan VP II masing-masing 1 tetes, dan sumur nomor 12 dengan TDA sebanyak 1 tetes.
5. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *Microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patent Record*.
6. Angka-angka oktaf didapatkan dari penjumlahan reaksi positif dari tiap-tiap kelompok.
7. Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktaf yang keluar.

4.7.1.5 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan 10^8 CFU/ml

1. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah diidentifikasi kemudian dikultur dalam media *nutrient broth* selama 18-24 jam dalam inkubator 37°C .
2. Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada akan dilakukan spektrofotometri dengan panjang gelombang (λ) 625 nm untuk mengetahui *Optical Density* (OD)
3. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri sebesar 10^8 CFU/ml atau yang setara dengan OD=0.1. Maka menggunakan perhitungan sebagai berikut :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan:

N_1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N_2 = Optical Density (0,1 = setara dengan 10^8 CFU/mL)

V_2 = Volume suspensi bakteri (10mL)

4. Dari hasil perhitungan tersebut diperoleh volume bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapat kepadatan 10^8 CFU/ml sebanyak 10ml.

4.7.2 Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi

4.7.2.1 Proses Pengeringan

1. Cuci bersih daun kemangi (sampel basah) yang akan dikeringkan, lalu potong kecil-kecil.
2. Hasil potongan di oven dengan suhu 80° sehingga kandungan airnya berkurang atau sampai kering. (Bandar et al., 2013)

4.7.2.2 Proses ekstraksi

1. Setelah kering, haluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk dan ditimbang sebanyak 200 g.
3. Lalu serbuk dibasahi menggunakan larutan etanol 96% sebanyak 200 ml.
4. Masukkan serbuk daun kemangi yang sudah dibasahi ke dalam toples, diratakan, dan ditambahkan kembali pelarut etanol 96% sampai serbuk terendam.
2. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam dan aduk dalam *shaker digital* dengan rpm 50.

3. Saring ekstrak dan ditampung dalam Erlenmeyer.
4. Ampas hasil saringan dimasukkan kembali ke dalam toples dan diberikan pelarut hingga terendam.
5. Dibiarkan dan dishaker selama 24 jam.
5. Remaserasi diulang hingga 2 kali sampai filtrate atau ekstrak terlihat lebih jernih ((Bandar et al., 2013)

4.7.2.3 Proses Evaporasi

1. Ambil ekstrak cair yang telah disaring dan dijadikan satu.
2. Masukkan ekstrak cair ke dalam labu evaporasi.
3. Pasang labu evaporasi pada *rotatory evaporator*.
4. Isi *water bath* dengan air sampai penuh.
5. Pasang semua rangkaian alat termasuk *rotatory evaporator* dan pemanas *water bath* yang sudah diatur pada suhu 90°C. Kemudian sambungkan dengan aliran listrik
6. Biarkan larutan etanol memisah zat aktif yang berada di dalam labu
7. Tunggu larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung
8. Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik
6. Masukkan dalam *freezer* ((Bandar et al., 2013)

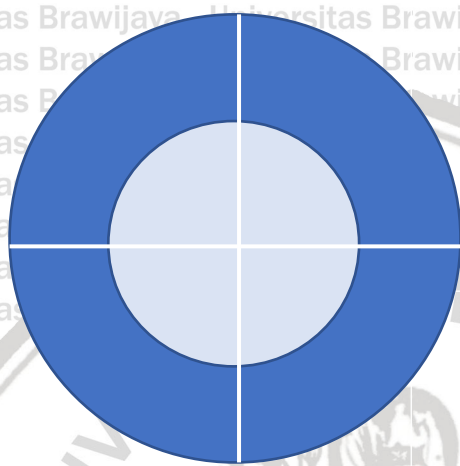
4.7.3 Pengujian Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Kemangi

4.7.3.1 Metode Difusi Sumuran

Uji efektivitas antimikroba ekstrak etanol Daun kemangi menggunakan metode difusi sumuran adalah sebagai berikut :

1. Menyiapkan alat dan bahan
2. Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dicampurkan dengan agar base pada cawan petri

3. Cawan petri digoyang-goyangkan sehingga campuran tercampur dengan baik, lalu didiamkan beberapa saat hingga mengeras.
4. Membuat lubang sumuran sebanyak 7 lubang pada agar dan suspense bakteri yang telah dicampur sebelumnya menggunakan *steril cork borer*.
5. Konsentrasi ekstrak dimasukkan ke dalam lubang dengan ketentuan sebagai berikut
 - a. Lubang 1 : 0% ekstrak daun kemangi
 - b. Lubang 2 : 50% ekstrak daun kemangi
 - c. Lubang 3 : 60% ekstrak daun kemangi
 - d. Lubang 4 : 70% ekstrak daun kemangi
 - e. Lubang 5 : 80% ekstrak daun kemangi
 - f. Lubang 6 : 90% ekstrak daun kemangi
 - g. Lubang 7 : 100% ekstrak daun kemangi
6. Cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator selama 18-24 jam dengan suhu 37°C.
7. Mengukur diameter zona hambat yang nampak pada sekitar lubang sumuran menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm).
8. Hasil pengukuran kemudian dirata-rata.



$$X = A+B/2$$

X= Diameter Zona Inhibisi

	0%	10%	30%	50%	70%	90%	100%
D1 (mm)							
D2 (mm)							
D3 (mm)							
D4 (mm)							
Rata-Rata							

Gambar 4.1 Ilustrasi Metode Pengukuran Zona Inhibisi

Tabel 4. 1 Tabel Pencatatan Hasil Pengukuran Diameter

Keterangan gambar

D1: Diameter pada pengulangan pertama

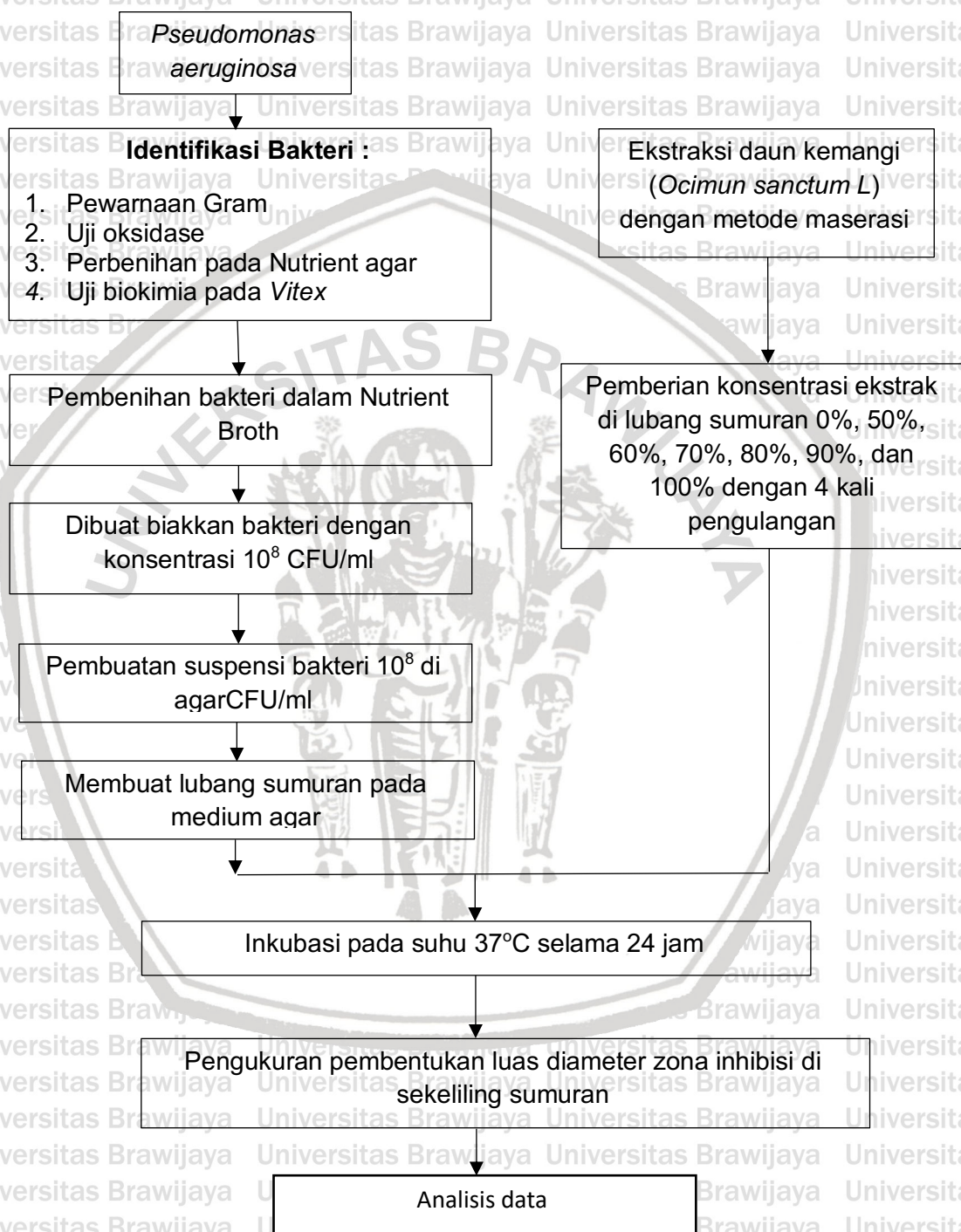
D2: Diameter pada pengulangan kedua

D3: Diameter pada pengulangan ketiga

D4: Diameter pada pengulangan keempat



4.7.4 Alur Kerja Penelitian



Bagan 4.1 Alur kerja penelitian

4.8 Analisis Data

Dari penelitian ini, tujuan yang ingin diketahui adalah zona inhibisi bakteri

Pseudomonas terhadap perlakuan pemberian ekstrak daun kemangi

(*Ocimum sanctum* L). Analisis hasil penelitian menggunakan program

analisis statistik yaitu SPSS (*Statistical Product of Service Solution*). Data

kualitatif dan data kuantitatif terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan

homogenitas varian, apabila data terdistribusi normal maka teknik analisis

data yang baik digunakan adalah uji ANOVA, jika data tidak terdistribusi

normal maka teknik analisis data yang baik digunakan adalah *Kruskal-*

Wallis. Selanjutnya dilakukan uji korelasi untuk mengetahui hubungan

antara variabel dependen dan variabel independen. Jika data parametrik

maka digunakan Uji Korelasi Pearson, sedangkan data non parametrik

akan diuji dengan Uji Korelasi Spearman.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Identifikasi Bakteri

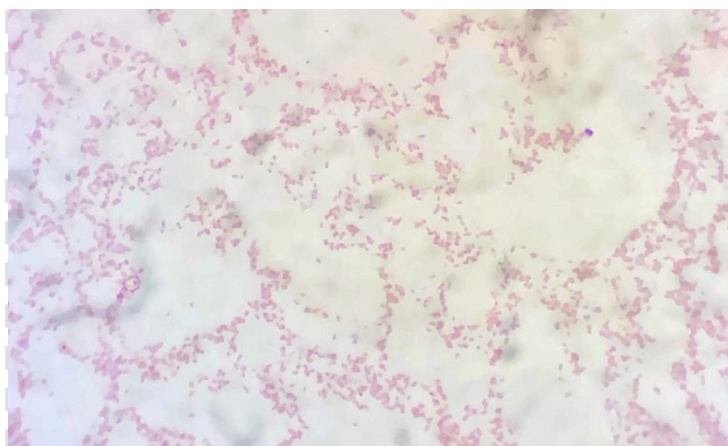
Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang disediakan oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya. Bakteri di *streaking* ulang pada Mueller hinton agar kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan gram dan uji oksidase.

Pada pewarnaan gram dengan pengamatan dibawah mikroskop perbesaran 1000x tampak gambaran koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk batang atau basil dan berwarna merah seperti pada gambar 5.1a. Hasil uji oksidase bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan adanya perubahan warna ungu pada *oksidase strip* dalam waktu kurang dari 10 detik. Hal ini menandakan bahwa hasil uji oksidase positif seperti yang terlihat pada gambar 5.1b.

Pembenihan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada *Nutrient* agar menunjukkan warna kehijauan yang disebabkan oleh produksi pigmen pyoverdin oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* seperti yang terlihat pada gambar 5.1c.

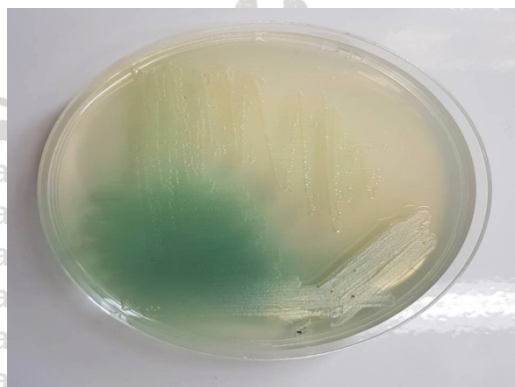
Uji biokimia menggunakan vitex dilakukan pada penelitian ini untuk mengidentifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil yang terlihat berupa data pada gambar 5.1d.



Gambar 5.1 (a) Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 5.1 (b) Hasil Uji Oksidase Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 5.1 (c) Pembenuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Nutrient Agar

Organism Quantity:
Selected Organism : *Pseudomonas aeruginosa*

Source: DRH Collected:

Comments:

Identification Information		Analysis Time:	7.00 hours	Status:	Final
Selected Organism		99% Probability	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
ID Analysis Messages		Bionumber:	0043451103500352		

Susceptibility Information		Analysis Time: 13.50 hours		Status: Final	
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Ertapenem		
Ampicillin	>= 32	R	Meropenem	<= 0.25	S
Ampicillin/Sulbactam	>= 32	R	Amikacin	<= 2	S
Piperacillin/Tazobactam	8	S	Gentamicin	<= 1	S
Cefazolin	>= 64	R	Ciprofloxacin	<= 0.25	S
Ceftazidime	4	S	Tigecycline	>= 8	R
Ceftriaxone	2	S	Nitrofurantoin	>= 512	R
Cefepime	2	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	80	R
Aztreonam	4	S			

== Deduced drug **= AES modified ***= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

Gambar 5.1 (d) Uji Biokimia Vitex Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

5.2 Gambaran Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*)

Simplisia daun kemangi terlihat seperti serbuk berwarna hijau yang didapat dari Batu Materia Medica. Proses pembuatan ekstrak etanol daun kemangi dilakukan di Laboratorium Polinema Malang. Hasil dari ekstrak etanol daun kemangi berwarna hitam-kecoklatan, keruh, dan sukar larut dalam air terlihat pada gambar

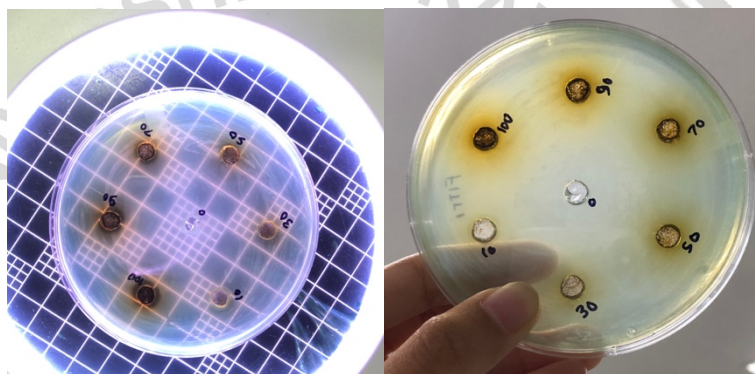
5.2.



Gambar 5.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L*)

5.3 Hasil Uji Sensitifitas Antimikroba

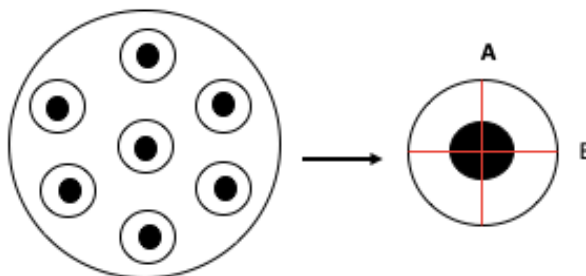
Uji sensitifitas antimikroba ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) diawali dengan uji pendahuluan menggunakan konsentrasi ekstrak 100%, 90%, 70%, 50%, 30%, 10%, dan satu kontrol positif yaitu lubang sumuran yang diberi aquadest sebagai tanda ekstrak 0%, kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37^o selama 18-24 jam. Diameter Zona Hambat adalah diameter zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran yang sudah diberi ekstrak daun kemangi. Hal tersebut menunjukkan aktivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 5.3 Hasil Pengamatan Uji Pendahuluan

Berdasarkan hasil uji pendahuluan ekstrak etanol daun kemangi pada lubang sumuran, terbentuk zona bening yang menunjukkan pengaruh ekstrak etanol daun kemangi dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 50%, 70%, 90%, dan 100% (Gambar 5.3), sehingga dilakukan pengulangan pada 4 cawan petri dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% dan aquadest sebagai kontrol. Hasil diamati setelah cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37^oC. Diameter zona bening atau zona inhibisi yang terbentuk meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi.

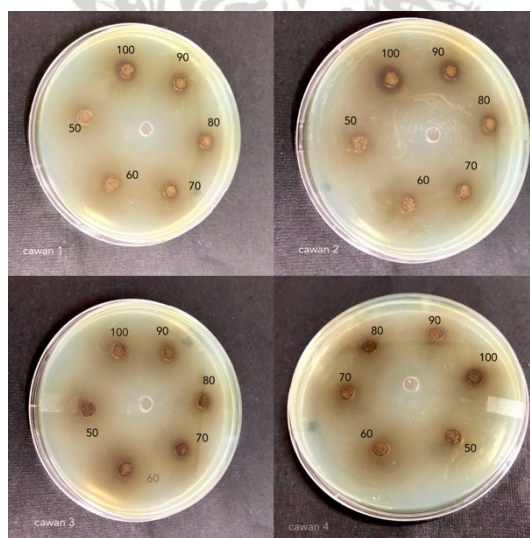
Pengukuran zona bening dilakukan menggunakan penggaris pada arah vertikal dan horizontal yang kemudian dirata-rata.



$$X = (A+B)/2$$

X=diameter zona inhibisi

Gambar 5.4 Cara Pengukuran Diameter Zona Inhibisi



Gambar 5.5 Hasil Pengulangan pada 4 Cawan Petri

Hasil pengukuran dan perhitungan zona inhibisi atau diameter zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran setelah pemberian ekstrak etanol daun kemangi dengan beberapa konsentrasi dapat dilihat di Tabel 5.1.

Pengulangan (mm)	Konsentrasi Ekstrak Daun Kemangi						
	100%	90%	80%	70%	60%	50%	0%
D1	9.5	8.5	8	7.5	7	0	0
D2	10	8	7	7	6.5	0	0
D3	10	9	8	7	0	0	0
D4	9	8	8	7.5	7	0	0
Rata-Rata	9.625	8.375	7.75	7.25	5.125	0	0

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran dan Perhitungan Zona Inhibisi pada Medium

Keterangan gambar:

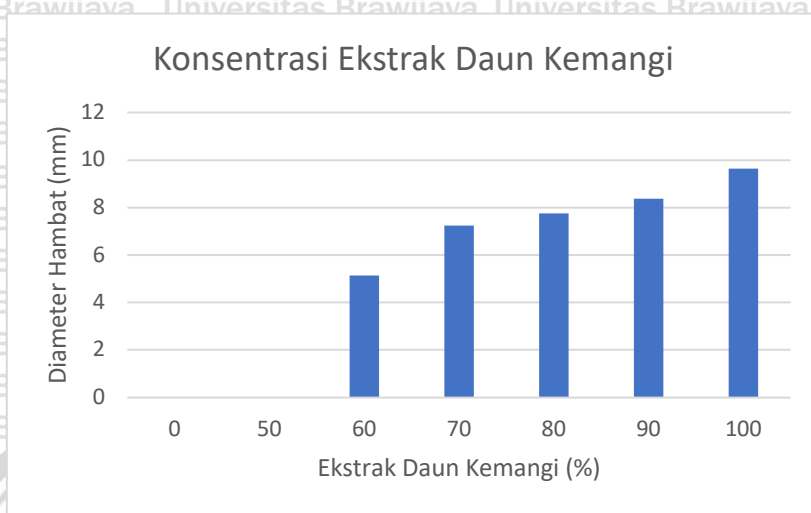
D1: Diameter Pengulangan Pertama

D2: Diameter Pengulangan Kedua

D3: Diameter Pengulangan Ketiga

D4: Diameter Pengulangan Keempat

Berdasarkan Gambar 5.6 dan Tabel 5.1 yang merupakan data hasil perhitungan dibuat grafik rerata diameter zona inhibisi yang menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun kemangi dengan zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran. Grafik rerata diameter zona inhibisi menunjukkan adanya peningkatan dengan penambahan konsentrasi ekstrak daun kemangi. Untuk mengetahui gambaran interaksi antara perubahan konsentrasi ekstrak terhadap rata-rata diameter zona inhibisi, maka dapat dilihat pada Gambar 5.7.



Gambar 5.6 Hasil Diameter Zona Inhibisi terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kemangi

5.4 Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistik SPSS versi 16.0 untuk windows. Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Langkah awal analisis data yaitu dengan melakukan uji normalitas dan homogenitas. Hasil uji normalitas didapatkan nilai signifikansi 0,2 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal (Lampiran 1).

Hasil uji homogenitas varian didapatkan nilai 0.639 ($p > 0,05$) yang berarti variasi tiap sampel homogen (Lampiran 2). Selanjutnya adalah dengan melakukan uji one way-ANOVA

Uji one-way ANOVA merupakan pengujian yang bertujuan untuk mengidentifikasi variabel bebas yang penting dan bagaimana variabel tersebut dapat mempengaruhi respons ((Wackerley, 2008). Syarat dilakukan uji one-way ANOVA adalah data harus terdistribusi normal dan varian data harus homogen.

Pada hasil uji one-way ANOVA terlihat nilai signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0.05$) yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat signifikan pada penambahan ekstrak daun kemangi terhadap diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, hal tersebut dapat diketahui melalui perbedaan hasil pengukuran diameter zona inhibisi seiring dengan penambahan konsentrasi ekstrak daun kemangi (Lampiran 3).

Uji *Post Hoc Tukey* menggunakan Beda Nyata Jujur (BNJ) sebagai nilai untuk menentukan apakah antara dua perlakuan berbeda atau tidak dengan membandingkan masing-masing perlakuan yang terdapat dalam percobaan.

Perbandingan dapat dilihat dari selisih nilai tengah dua konsentrasi dengan nilai BNJ. Perbedaan yang signifikan terjadi jika nilai selisih dua nilai tengah perlakuan lebih dari nilai BNJ, apabila nilai selisih dua nilai tengah perlakuan kurang dari nilai BNJ maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara dua perlakuan tersebut. Hasil dari uji *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0% yang dibandingkan dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% terdapat perbedaan diameter zona inhibisi yang signifikan, perbedaan ini dibuktikan dengan nilai $p < 0,05$. Pada konsentrasi 60% tidak terdapat perbedaan diameter zona inhibisi yang signifikan dengan konsentrasi 70% dan 80%. Diameter zona inhibisi pada konsentrasi 80% ditemukan juga tidak berbeda secara signifikan dengan konsentrasi 90%. Perbedaan diameter zona inhibisi yang signifikan ditemukan pada konsentrasi 60% dengan 90%, konsentrasi 70% dengan 90%, dan konsentrasi 90% dengan 100% (Lampiran 4).

Korelasi pearson merupakan korelasi sederhana yang hanya melibatkan satu variabel terikat (*dependent*) dan satu variabel bebas (*independent*). Korelasi pearson menghasilkan koefisien korelasi yang berfungsi untuk mengukur

kekuatan hubungan linier antara dua variable. Uji Korelasi Pearson bertujuan untuk mengetahui keeratn hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan diameter zona inhibisi yang terbentuk. Berdasarkan hasil dapat diketahui bahwa nilai korelasi (ρ) = 0,908. Artinya, terdapat hubungan positif yang sangat kuat antara konsentrasi ekstrak daun kemangi dengan diameter hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang diberikan maka semakin besar pula diameter zona inhibisi yang terbentuk (Lampiran 5).

Uji analisis regresi dilakukan untuk mengetahui sejauh mana perubahan variabel dependen yang disebabkan perubahan pada variabel independen. Dalam penelitian ini berfungsi untuk mengetahui besarnya probabilitas perubahan diameter zona inhibisi yang terbentuk yang disebabkan oleh perubahan konsentrasi ekstrak daun kemangi. Berdasarkan hasil *Output SPSS*, diperoleh $R^2 = 0,825$. Artinya, pemberian ekstrak daun kemangi dalam menaikkan diameter hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memberikan kontribusi sebesar 82,5% sedangkan sisanya 17,5% disebabkan oleh faktor lain yang tidak diteliti seperti lama penyimpanan ekstrak dan resistensi bakteri itu sendiri (Lampiran 6).

Model regresi yang menunjukkan hubungan antara pemberian ekstrak daun kemangi dalam menaikkan diameter inhibisi pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu

$$Y = 2,49 + 0,068X + \varepsilon$$

Y merupakan diameter inhibisi pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, X merupakan konsentrasi ekstrak daun kemangi, dan ε merupakan galat atau beberapa faktor lain yang tidak diketahui. Setiap peningkatan konsentrasi ekstrak

daun kemangi sebesar 1% akan menaikkan diameter hambatan pertumbuhan bakteri

Pseudomonas aeruginosa sebesar 0,068 mm.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Penjelasan Singkat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) sebagai antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diamati secara *in vitro*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode sumuran dengan mengukur diameter zona inhibisi atau zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran yang menunjukkan adanya aktivitas ekstrak etanol daun kemangi sebagai antimikroba yaitu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

6.2 Identifikasi Bakteri dan Proses Ekstraksi

Bakteri yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Simplisia daun kemangi diperoleh dari Batu Materia Medica dan kemudian melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% di Laboratorium Polinema. Sebelum dilakukan uji sensitifitas ekstrak etanol daun kemangi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, bakteri perlu diidentifikasi dengan cara pengecatan gram dan uji oksidase. Dari hasil identifikasi menggunakan pewarnaan gram yang diamati dibawah mikroskop tampak koloni bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Pada uji oksidase menunjukkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* oksidase positif. Berdasarkan data-data yang terlampir

dari hasil uji biokimia menggunakan mesin vitex menunjukkan bakteri yang digunakan pada penelitian ini merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

6.3 Penelitian Pendahuluan

Setelah melakukan identifikasi bakteri, selanjutnya dilakukan uji pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi perlakuan yang tepat.

Pada uji pendahuluan, konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang digunakan yaitu 100%, 90%, 70%, 50%, 30%, 10%, dan aquadest sebagai kontrol positif.

Hasil yang didapatkan dari uji pendahuluan adalah terbentuknya zona inhibisi pada konsentrasi 50%, 70%, 90%, dan 100%. Berdasarkan hasil uji pendahuluan dilakukan uji pengulangan pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, dan aquadest sebagai kontrol. Uji pengulangan dilakukan pada 4 cawan petri sekaligus. Setelah diamati terlihat zona inhibisi yang terbentuk pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%. Langkah terakhir adalah melakukan uji pengulangan dengan perapatan konsentrasi pada 4 cawan petri sekaligus sehingga dapat mengetahui konsentrasi yang tepat pada penelitian ini. Konsentrasi yang digunakan yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan aquadest sebagai kontrol.

6.4 Diameter Zona Inhibisi

Diameter zona inhibisi merupakan zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Setelah dilakukan pengamatan dan pengukuran pada uji pengulangan dengan perapatan konsentrasi, diameter zona inhibisi terkecil terlihat pada konsentrasi 60% dengan rata-rata 5,125 mm sedangkan diameter zona inhibisi terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan rata-rata 9,625 mm. Hal

tersebut menunjukkan bahwa terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*.

Hasil penelitian kemudian dianalisis dengan *IBM SPSS Statistics 24 software* untuk *windows*. Berdasarkan hasil analisis didapatkan bahwa data terdistribusi normal dan memiliki variasi yang homogen. Dari data tersebut juga menunjukkan adanya perbedaan diameter zona inhibisi pada setiap konsentrasi yang diberikan. Selain itu, didapatkan bahwa diameter zona inhibisi mengalami peningkatan seiring dengan penambahan konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi. Hal ini menunjukkan bahwa adanya hubungan yang positif antara konsentrasi ekstrak daun kemangi dengan diameter zona inhibisi, karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kemangi yang diberikan maka semakin besar pula diameter zona inhibisi yang terbentuk.

6.5 Mekanisme Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Mekanisme antimikroba ekstrak etanol daun kemangi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat melalui beberapa cara yaitu dengan menyebabkan gangguan pada metabolisme dan fisiologis sel bakteri serta kerusakan yang terjadi pada membran sel, hal tersebut sesuai dengan fungsi beberapa senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Diketahui bahwa ekstrak etanol daun kemangi mengandung beberapa senyawa aktif yang terkandung di dalamnya yaitu minyak atsiri, *flavonoid*, dan *tannin* (Angelina *et al*, 2015).

Minyak Atsiri tidak tersusun dari senyawa tunggal, tetapi merupakan campuran dari komponen yang berbeda-beda. Diketahui bahwa eugenol adalah salah satu senyawa aktif penyusun minyak atsiri yang terkandung di dalam daun kemangi. Eugenol merupakan anggota dari kelas senyawa kimia fenilpropanoid

(MogHaddam *et al*, 2011). Senyawa fenol bekerja melalui ikatan hidrogen antara senyawa hidroksil yang dimilikinya dengan protein membran sel bakteri, sehingga akan mengganggu fungsi protein membran sel bakteri sebagai pengatur keluar masuknya zat-zat dari dalam sel maupun dari luar sel (Dewi, 2015).

Tannin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder dengan komponen zat organik yang sangat kompleks. Berdasarkan strukturnya, senyawa *tannin* merupakan senyawa yang termasuk golongan senyawa flavonoid. Menurut beberapa penelitian yang sudah dilakukan terdahulu, tannin diketahui dapat berperan sebagai antimikroba dan antioksidan. Senyawa tannin yang terkandung di dalam daun kemangi akan menyebabkan protein terdenaturasi dan peningkatan permeabilitas membran sel bakteri, sehingga proses metabolisme sel bakteri akan terganggu (Sumono *et al*, 2008).

Flavonoid merupakan sekelompok senyawa dengan struktur fenolik yang terkandung di dalam tanaman. Flavonoid dianggap sebagai komponen penting dalam berbagai aplikasi di bidang kesehatan. Hal ini disebabkan Karena flavonoid memiliki sifat sebagai antioksidan, antimikroba, antikanker, dan lain sebagainya (Pache *et al*, 2016). Orientin dan Vicenin merupakan jenis flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak daun kemangi yang berperan sebagai antioksidan. Sedangkan senyawa apigenin flavonoid memiliki efek antimikroba dengan mekanisme menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, metabolisme energi, dan pembentukan biofilm pada bakteri. Dengan adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam daun kemangi proses metabolisme dan fungsi fisiologis sel akan terganggu dan menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat (Xie *et al*, 2014).

6.6 Penelitian Terkait

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Angelina *et al* (2015) ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* secara optimal pada konsentrasi 100% dalam inkubasi 24 jam. Penelitian tersebut juga membahas pengaruh waktu inkubasi dengan diameter zona inhibisi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Shabrina *et al* (2017) daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Neisseria gonorrhoeae* pada konsentrasi 100%. Pemanfaatan daun kemangi sebagai pasta gigi pada penelitian yang dilakukan oleh Nurmasitha *et al* (2015) menunjukkan bahwa daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) memiliki potensi untuk mengatasi masalah gigi dan mulut akibat bakteri *S. mutans*, namun disamping harga yang murah dan sangat mudah ditemukan di masyarakat masih diperlukan pengujian secara klinis manfaat daun kemangi.

6.7 Keterbatasan Penelitian

Kekurangan pada penelitian ini yaitu tidak menggunakan antibiotik sebagai kontrol positif sehingga perbandingan efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dengan antibiotik tidak dapat diketahui. Pada hasil penelitian terlihat penurunan diameter zona hambat pada uji pengulangan yang dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah lamanya waktu penyimpanan ekstrak dan waktu inkubasi, selain itu masih perlu dilakukan penelitian terkait farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, efek samping juga uji secara *in vivo* dari ekstrak daun kemangi.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran.
2. Zona inhibisi ekstrak etanol daun kemangi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terbentuk di sekitar lubang sumuran pada konsentrasi 60%, 70%, 80%, 90%, 100%.
3. Konsentrasi ekstrak daun kemangi berkorelasi positif dengan diameter zona inhibisi, yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang diberikan maka semakin besar pula diameter zona inhibisi yang terbentuk.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah :

1. Proses penyimpanan ekstrak tidak boleh terlalu lama karena, akan mempengaruhi potensi penghambatan pertumbuhan bakteri.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai beberapa zat aktif lainnya yang terdapat dalam daun kemangi (*Ocimum santum L*) yang mempunyai efek sebagai antimikroba.

3. Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang potensi ekstrak daun kemangi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan metode penelitian lainnya.
4. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan metode ekstraksi daun kemangi yang berbeda untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi dengan efektivitas ekstrak daun kemangi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
5. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi antimikroba bagian tumbuhan kemangi lainnya seperti batang dan biji.
6. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat farmakodinamik, farmakokinetik dan toksisitas ekstrak daun kemangi secara *in vivo* ataupun uji klinis agar dapat diaplikasikan ke manusia sebagai salah satu pengobatan alternatif terhadap infeksi *Pseudomonas aeruginosa*.

DAFTAR PUSTAKA

- Angelina M, Khotimah S. 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escheria coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont* 4(1) : 184-9
- Apriyanti N R, Desi S R. 2016. *Akuponik Praktis*. Trubus Swadaya. Depok.
- Aryal S. 2015. MacConkey Agar-Composition, Principle, Uses, Preparation and Colony Morphology. *www.microbiology info.com*. 28 November 2018 (20.13)
- _____. Oxidase Test-Principle, Procedure, Types, Result, Interpretation, Example, and Limitations. *www.microbiology info.com*. 26 November 2018 (20.42)
- _____. Nutrient Agar-Composition, Preparation and Uses. *www.microbiology info.com*. 28 November 2018 (22.37)
- Bandar H, Hijazi A, Hassan R. 2013. Techniques for the Extraction of Bioactive Compounds from Lebanese *Urtica Dioca*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. ISSN 2321-2748
- Baseer M. and Jain K. 2016. Review of Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary applications and Toxicology of *Ocimum sanctum*. *Int. J. Pharm. Life Sci*. Vol 7(2):4918-4929.
- Batra S. 2018. Morphology and Culture Characteristic of *Pseudomonas aeruginosa*. *https://paramedicsworld.com*. 10 Desember 2018 (16.05)
- Berlian Z, Aini F, Lestari W. 2016. Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum L.*) terhadap fungi *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Jurnal Biota* Vol 2 No. 1.

Brooks G F, Butel J S, Morse S A. 2007. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 23 EGC. Jakarta.

Cohen M M. 2014. Tulsi - *Ocimum sanctum*: A herb for all reasons. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, 5(4), 251-9.

Cushnie T P, Lamb A J. 2005. Antimicrobial Activity of flavonoid. *Int J Antimicrob Agents* 26: 343-356

Dharmayanti S. 2007. Berbagai Khasiat Daun Kemangi. <http://pikiranrakyat.com>. 26 November 2018 (17.36)

Delden C V. 2004. Virulence Factors in *Pseudomonas aeruginosa*. Virulence and Gene Regulation. Springer. Boston

Dewi D N. 2015. Aktivitas Antibakteri Minyak Aksiti Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) terhadap *Propionibacterium acnes* secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jember

Djunaedi D. 2001. Jenis Bakteri dan Sensitivitas Antibiotik pada Kasus Infeksi Nosokomial akibat Pemasangan Kateter di RSSA Malang Periode November 2000-Maret 2001. *Jurnal Kedokteran Brawijaya Vol XXII*

Eswar P, Devaraj C G, & Agarwal P. 2016. Anti-microbial Activity of Tulsi {*Ocimum Sanctum* (Linn.)} Extract on a Periodontal Pathogen in Human Dental Plaque: An Invitro Study. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 10(3), ZC53-6.

Friedrich M. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* Infections. <https://reference.medscape.com>. 10 Desember 2018 (18.23)

Ghina, Nadya, Tika. 2017. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa. <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>. 12 Desember 2018 (21.36)

Heinrich M, Barnes J, Gibsons S, Williamso, Elizabeth M. 2004. Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapi. Hungary : Elseveir

Hariana A. 2007. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Seri 2. Penebar Swadaya. Jakarta

Ismiyati N, Farisya N. 2016. Efek Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum L*) Sebagai Agen Kemopreventif pada Sel Kanker Leher Rahim Hela Melalui Aktivitas Sitotoksik dan Induksi Apoptosis. *Media Farmasi* 13(1) 35-48.

Kaiser G. 2016. Using Biochemical Testing to Identify Bacteria. <https://bio.libretexts.org>. 10 Desember 2018 (16.04)

Khan, Latifa B et al. 2018. Simulation of MICROBACT Strip Assay Using Colored Liquids to Demonstrate Identification of Unknown Gram-Negative Organisms in Undergraduate Laboratory'. *Journal of microbiology & biology education* 19(2): 19.2.76.

Kirenko N V, Ausubel FM, Ruvkun G. 2013. *Pseudomonas aeruginosa* disrupts *Caenorhabditis elegans* iron homeostasis, causing a hypoxic hypoxic response and death. *Cell Host & Microbe* 13(4) : 406-16.

Kusuma, W. 2010. Efek Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap Kerusakan Hepatosit Mencit Akibat Minyak Sawit dengan Pemanasan Berulang. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta

Lisa, N. 2008. Uji Aktivitas In Vitro Levofloksasin Terhadap Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Resisten Multiobat Di RSU Dr.

Soetomo

Leavell S, Brant H, Bernie H. 2007. MacConkey Agar.

http://www.austincc.edu/microbugz/macconkey_agar.php. 9 Desember

2018 (20.17)

Madigan M T, Martinko J M, Parker J. 2003. Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition. Southern Illinois University Carbondale. Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, NJ 2003: 370,633-37,673,745.

Mayasari E. 2006. '*Pseudomonas aeruginosa*; karakteristik, infeksi, dan penanganan'. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

MogHaddam A, Shayegh J, Mikaili P, Sharaf J. 2011. Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. Leaves on a variety of pathogenic bacteria. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5 (15): 3453-3456

Naibaho H, Yamlean P, Wiyono W. 2013. Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Pada Kulit Punggung Kelinci yang dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 2 No. 02.

Nasronuddin. 2007. Penyakit Infeksi Di Indonesia. Solusi Kini Dan Mendatang. Airlangga University Press: Surabaya.

Nurmashita D, Rijai L, Sulistiarini R. 2015. Pengaruh Daun Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap Aktivitas Antibakteri Basis Pasta Gigi. Jurnal Sains Dan Kesehatan 1 (4)

Nios. 2012. *Pseudomonas aeruginosa*. <https://nios.ac.in>. 10 Desember (19.53)

Oxoid. 2013. Microbact Biochemical Identification Kits. <http://oxoid.com>. 10 Desember (20.15)

Pattanayak P, Behera P, Das D, Panda S K. 2010. *Ocimum sanctum* Linn. A reservoir plant for therapeutic applications: *Pharmacognosy reviews*, 4(7), 95-105.

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47.

Rahman A F, Tetiana H, Triana W U. 2017. Skring Fotokimia dan Aktivitas Antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annoa murricata*) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* 3 (1)

Roosjen A, Henk J B, Willem N, Henny C. 2006. Bacterial factors influencing adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* strains to poly (ethylene oxide) brush. *Microbiology* 52: 2673-2682

Roy P H. 2010. Complete genome sequence of the multiresistant taxonomic outlier *Pseudomonas aeruginosa* PA7. *PLoS One* 5(1):e8842

Sarah SM dan Lamia A.M. 2015. Estimation of the phitochemical constituents and biological activity of iraqi *Ocimum sanctum* L .extracts. *Int J Pharm Bio Sci*. Vol 6 (1): (B) 999-1007.

Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I.A., dan Purnomo. 2002.

Tumbuhan Obat II, Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan 96-100. Pusat Studi Obat Tradisional. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Sumono A dan Agustun. 2009. The Use of Buy Leaf in Dentistry. Dentistry

Journal Vol. 4 (3): 47-150

Tankeshwar. 2015. Gram Staining: Principle, Procedure, and Results.

<https://microbeonline.com>. 10 Desember 2018(15.35)

Todar K. 2004. *Pseudomonas aeruginosa*. University of Wisconsin-

Madison University of Bacteriology. <http://www.textbookofbactelogy.net>.

26 November 2018 (20.06)

Tjitrosoepomo, G. 2002. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta). Cetakan VII.

Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Utami, T E. 2012. *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Fakultas Kedokteran

Universitas Diponegoro. Semarang

Wahyono, H. 2007. Peran Mikrobiologi Klinik Pada Penanganan Penyakit Infeksi.

Makalah Pidato Pengukuhan Guru Besar Dalam Ilmu Mikrobiologi

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro: Semarang

Xie, Yixi & Yang, Weijie & Chen, Xiaoqing & Ren, Licheng. 2014. *Antibacterial*

Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism.

Current medicinal chemistry. 22