

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI - FRAKSI DARI
EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum tenoiflorum*)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Bacillus subtilis***

**Oleh
MARIA SISILIA WANGGE
211148201183**

SKRIPSI

**Untuk memenuhi salah satu syarat ujian
guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi**



**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
2025**

LEMBAR PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI - FRAKSI DARI EKSTRAK
DAUN KEMANGI (*Ocimum tenuiflorum*) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Bacillus subtilis***

Dipersiapkan dan disusun oleh
MARIA SISILIA WANGGE
21148201183

Telah dipertahankan didepan Tim Penguji pada tanggal 21 Mei 2025

Pembimbing Utama



apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm.
NIK : 0923.A4.30

Mengetahui,
Ketua Program Studi S-1 Farmasi


apt. Raymon Simanullang, M.Pharm.
NIK : 0924. A4.18

Pembimbing Pendamping



Risny Oklvan, M.Farm.
NIK : -

Tim Penguji

Ketua : Nurillahi Febria Leswana, M.Sc.
Anggota :

1. Maria Elvina Tresia Butar Butar, M.Farm.

2. apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm.



PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Samarinda, 9 Juni 2025

Yang membuat pernyataan,
(Maria Sisilia Wangge)

KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu STIKES Dirgahayu Samarinda.

LEMBAR PERSEMBAHAN

Bunda Maria, Tuhan Yesus Kristus, Maria Sisilia Wangge, Mama, Bapa, seluruh anggota keluarga tercinta, sahabat, dan semua orang-orang baik yang telah membantu penulis.

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMISI**

Sebagai civitas akademik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Maria Sisilia Wangge

NIM 211148201183

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui memberikan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas skripsi saya yang berjudul "**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI – FRAKSI EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum tenoiflorum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Bacillus subtilis***". Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda berhak menyimpan mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Samarinda
Pada tanggal 9 Juni 2025
Yang menyatakan

(Maria Sisilia Wangge)

ABSTRAK

Salah satu bakteri penyebab infeksi adalah *Bacillus subtilis*, yang apabila terdapat dalam jumlah banyak di dalam usus dapat menyebabkan diare yang ditularkan melalui kontaminasi makanan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah fraksi air, etil asetat, dan N-Heksan dari daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode rancangan penelitian eksperimental. Sampel yang adalah daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum*) yang masih muda, dan berwarna hijau segar. Metode ekstraksi yang dilakukan adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi - fraksi ekstrak daun kemangi menggunakan metode difusi cakram dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 20% kontrol positif antibiotik eritromisin dan kontrol negatif DMSO 1%. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata – rata diameter zona hambat terbesar pada fraksi air konsentrasi 20% sebesar 10,16 mm termasuk kategori kuat, pada fraksi etil asetat konsentrasi 10% sebesar 12,53 mm termasuk kategori kuat, dan pada fraksi n-heksan konsentrasi 20% sebesar 12,98 mm termasuk dalam kategori kuat. Hasil uji statistik menggunakan *software* SPSS IBM versi 27, nilai uji *One Way* ANOVA pada bakteri *Bacillus subtilis* memiliki nilai ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok perlakuan.

Kata kunci : Daun kemangi, antibakteri, *Bacillus subtilis*.

ABSTRACT

One of the bacteria that causes infection is Bacillus subtilis, which if present in large quantities in the intestine can cause diarrhea that is transmitted through food contamination. The purpose of this study was to determine whether the water, ethyl acetate, and N-Hexane fractions of basil leaves (Ocimum tenuiflorum) have antibacterial activity against Bacillus subtilis bacteria. This type of research is a quantitative study with an experimental research design method. The sample is young basil leaves (Ocimum tenuiflorum) and is fresh green in color. The extraction method used is the maceration method using 96% ethanol solvent. Testing the antibacterial activity of basil leaf extract fractions using the disc diffusion method with variations in concentration of 5%, 10%, 20% positive control of erythromycin antibiotics and negative control of 1% DMSO. Based on the research results, the average diameter of the largest inhibition zone in the 20% water fraction concentration was 10.16 mm, including the strong category, in the 10% ethyl acetate fraction concentration of 12.53 mm included in the strong category, and in the 20% n-hexane fraction concentration of 12.98 mm included in the strong category. The results of statistical tests using IBM SPSS software version 27, the One Way ANOVA test value on Bacillus subtilis bacteria has a value ($p < 0.05$) which means there is a significant difference in each treatment group.

Keywords : *Basil leaves, antibacterial, Bacillus subtilis*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI – FRAKSI EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum tenoiflorum*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Bacillus subtilis*”**”.

Penelitian dan penulisan proposal ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. Hormat dan Kemuliaan kepada Allah Tritunggal Mahakudus : Bapa, Putera dan Roh Kudus, atas segala kemurahan dan penyelenggaraan ilahi dan juga kepada Bunda Maria Perawan tak bercela, atas segala rahmat dan kebaikannya, sehingga skripsi ini boleh terselesaikan pada waktu dan seturut rancangan Tuhan.
2. Cinta pertama dan panutan penulis, bapa Kristoforus Logho dan mama Matilde Mei tersayang. Terima kasih pa, ma, ini untuk kalian. Terima kasih banyak untuk semua dukungan dan doa tulus yang tak terhingga dari mama dan bapa, Tuhan Yesus dan Bunda Maria selalu menjaga dan memberkati kalian berdua.
3. Ns. Andrea Theofrida Bone, S.Kep., MAN. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
4. apt. Raymon Simanullang, M.Pharm. selaku Ketua Program Studi S-1 Farmasi,
5. apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Risny Oklyan, M.Farm, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak memberikan bimbingan, nasihat, serta dukungan kepada penulis. Terimakasih banyak bapak dan ibu atas bantuannya selama proses penyusunan skripsi ini, semoga Tuhan membalas berlipat ganda semua kebaikan bapak dan ibu.

6. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda,
7. Saudara dan saudari saya yang tercinta, Abang, Osin, Mario. Terimakasih juga buat doa dan dukungan kalian selama proses perkuliahan ini.
8. Klaudia Beatrix Logo, Putri Mariana, Siscalia Rumere, dan Selvina selaku sahabat penulis yang senantiasa menemani penulis dalam keadaan sulit dan senang, memberikan dukungan serta motivasi, dan memberikan doa di setiap langkah yang penulis lalui sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan lancar.
9. Teman teman angkatan 2021 yang sudah kebersamai proses perkuliahan, memberikan inspirasi dan kebahagiaan selama 4 tahun ini.
10. Semua pihak yang tidak mampu penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan hingga terwujudnya skripsi ini.
11. Terakhir, untuk diri sendiri, Maria Sisilia Wangge, terima kasih karena sudah mampu berusaha keras dan berjuang sejauh ini, mampu mengendalikan diri dari tekanan luar, tidak menyerah sesulit apapun rintangan dalam proses penyusunan skripsi ini, dan tetap berdiri tegak ketika dihantam permasalahan yang ada. Terima kasih karena memutuskan untuk tidak berhenti, berbahagialah selalu dimanapun berada, apapun kurang dan lebihmu, mari merayakan diri sendiri.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, 9 Juni 2025

Penulis

DAFTAR ISI

COVER	HALAMAN
LEMBAR PENGESAHAN	i
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iii
KUTIPAN.....	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN.....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI	vi
ABSTRAK.....	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Daun Kemangi	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	5
2.1.2 Kandungan Kimia	6
2.1.3 Aktivitas Antibakteri	10
2.1.4 Senyawa Fitokimia.....	11
2.2 Bakteri <i>Bacillus Subtilis</i>	11
2.3 Uji Aktivitas Antibakteri	12
2.3.1 Metode Difusi.....	12
2.3.2 Metode Dilusi.....	13
2.4 Ekstraksi Simplisia	14

2.5	Fraksinasi	15
BAB III METODE PENELITIAN		16
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.1.1	Waktu Penelitian	16
3.1.2	Tempat Penelitian	16
3.2	Alat dan Bahan	16
3.2.1	Alat	16
3.2.2	Bahan	16
3.3	Metode Penelitian	17
3.3.1	Jenis Penelitian	17
3.3.2	Definisi Operasional	17
3.3.3	Fokus Penelitian	18
3.3.4	Sampel dan Teknik <i>Sampling</i>	18
3.3.5	Teknik Pengumpulan Data	19
3.3.6	Tahap Penelitian	19
3.4	Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi	21
3.5	Standarisasi Ekstrak	22
3.6	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi	23
3.6.1	Tahap Pelaksanaan	23
3.6.2	Tahap Uji Aktivitas Antibakteri	25
3.6.3	Pengamatan dan Pengukuran	26
3.6.4	Analisis Data	27
3.7	Kerangka Penelitian	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		29
4.1	Determinasi Tumbuhan Daun Kemangi	29
4.2	Pembuatan Simplisia	29
4.3	Ekstraksi Simplisia	30
4.4	Fraksinasi	31
4.6	Skrining Fitokimia	34
4.7	Uji Aktivitas Antibakteri	38
BAB V KESIMPULAN		49
5.1	Kesimpulan	49

5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 3. 1 Tabel definisi operasional.....	17
Tabel 3. 2 Diameter Zona Hambat	27
Tabel 4. 1 Hasil Pembuatan Simplisia Daun Kemangi	30
Tabel 4. 2 Hasil % Rendemen ekstrak etanol 96% Daun kemangi	31
Tabel 4. 3 Hasil % Rendemen Fraksi Fraksi Ekstrak Daun kemangi	32
Tabel 4. 4 Hasil Standarisasi Daun Kemangi	32
Tabel 4. 5 Hasil skrining fitokimia Simplisia Daun Kemangi	34
Tabel 4. 6 Rata rata diameter zona hambat fraksi air	38
Tabel 4. 7 Rata rata diameter zona hambat fraksi etil asetat	39
Tabel 4. 8 Rata rata diameter zona hambat fraksi N-Heksan	40
Tabel 4. 9 Hasil Uji Normalitas data <i>Shapiro-wilk S</i>	44
Tabel 4. 10 Hasil Uji <i>Post-Hoc</i> LSD dan <i>One Way</i> Anova Fraksi Air	45
Tabel 4. 11 Hasil Uji <i>Post-Hoc</i> LSD dan <i>One Way</i> Anova Fraksi Etil Asetat.....	46
Tabel 4. 12 Hasil Uji <i>Post-Hoc</i> LSD dan <i>One Way</i> Anova Fraksi N-Heksan	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2. 1 Daun Kemangi	6
Gambar 2. 2 Struktur kimia flavonoid	7
Gambar 2. 3 Struktur Kimia Minyak Atsiri	8
Gambar 2. 4 Struktur kimia saponin	8
Gambar 2. 5 Struktur Kimia Tanin	9
Gambar 2. 6 Struktur kimia alkaloid.....	9
Gambar 3. 1 Tahap pengujian bakteri.....	26
Gambar 3. 2 Alur Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri	28
Gambar 4. 1 Reaksi pembentukan senyawa alkaloid	34
Gambar 4. 2 Reaksi pembentukan senyawa saponin.....	35
Gambar 4. 3 Reaksi pembentukan senyawa tanin	35
Gambar 4. 4 Reaksi pembentukan senyawa flavonoid.....	36

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi merupakan salah satu penyakit yang masih sering menjadi masalah kesehatan di sekitar kita. Penyakit ini juga merupakan penyebab utama dari tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan kematian (*mortality*), khususnya di negara berkembang, termasuk Indonesia (Irsyaadyah, 2019). Salah satu bakteri penyebab infeksi adalah *Bacillus subtilis*, yang apabila terdapat dalam jumlah banyak di dalam usus dapat menyebabkan diare yang ditularkan melalui kontaminasi makanan. Bakteri ini juga bisa menyebabkan infeksi mata, endokarditis, meningitis, septikemia dan bakterimia (Utami *et al.*, 2017).

Obat yang paling sering digunakan untuk infeksi bakteri adalah antibiotik dimana penggunaannya harus tepat, aman dan rasional. Penggunaan antibiotik yang terlalu sering, tidak rasional, dan digunakan dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan dampak negatif, yaitu mikroorganisme menjadi resisten terhadap berbagai antibiotik (*multidrug-resistance*). Prevalensi penyakit infeksi yang tinggi, meningkatkan penggunaan antibiotik di masyarakat (Ivoryanto, 2017). Oleh karena itu, berkembangnya resistensi terhadap obat dan meningkatnya minat konsumen terhadap obat yang memiliki efek samping yang minimal menimbulkan upaya untuk mengembangkan agen antibakteri baru.

Resistensi antibiotik merupakan salah satu masalah kesehatan di masyarakat yang sangat penting untuk diselesaikan. Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri tidak merespon obat untuk membunuhnya. Faktor penting yang menyebabkan tingginya angka resistensi antibiotik ialah penggunaan yang tidak rasional (Ivoryanto, 2017). Data akademi sains nasional (NAS) Amerika Serikat menunjukkan penggunaan antibiotik didunia dari tahun 2000 sampai 2015 meningkat sebesar 65%. Kemudian berdasarkan data Badan Kesehatan Dunia (*WHO*) dalam *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance* menunjukkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik di dunia, khususnya infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik *Methicillin*,

sehingga fungsi antibiotik tersebut menjadi menurun. Data Riskesdas 2018 menunjukkan prevalensi penyakit infeksi masih tinggi dan terus meningkat. Pada 2015 tercatat sebanyak 30.935 kasus, 2016 tercatat sebanyak 41.250 kasus dan 2017 tercatat sebanyak 48.300 kasus.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Angelina (2015) menyebutkan bahwa minyak atsiri, *eugenol*, dan flavonoid dalam daun kemangi (*Ocimum basilicum*) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* (Angelina, 2015). Flavonoid yang terkandung kemangi dalam daun berperan sebagai sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel bakteri. Penelitian ini juga menyebutkan bahwa kandungan pada tanaman kemangi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi minimal 20% dengan metode kertas cakram. Pada penelitian yang dilakukan Umi (2022), menyebutkan ekstrak daun kemangi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, zona hambat yang terbentuk karena daun kemangi mempunyai kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, dan juga tanin yang bersifat antibakteri (Umi, 2022). Pada penelitian yang dilakukan Natasya (2021), menyebutkan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun kemangi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada konsentrasi 80% dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) nya terdapat pada konsentrasi 100% (Natasya, 2021). Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Ariani (2020) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 40% - 20% (Ariani, 2020). Kemudian pada penelitian yang dilakukan Dewi (2023), yang menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi dengan menggunakan metode KLT-Bioautografi, dimana hasilnya menunjukkan penghambatan bakteri pada nilai Rf 0,15, 0,31, 0,44, dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio sp*, *Bacillus subtilis* (Dewi, 2023).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti ingin melakukan pengujian aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* dengan metode maserasi dan metode difusi cakram dengan menggunakan fraksi - fraksi dari ekstrak daun kemangi yang dibagi menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 5%, 10%, dan 20%, untuk melihat apakah fraksi – fraksi tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji yang digunakan.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka identifikasi masalah dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :

- 1.2.1 Apakah fraksi air, etil asetat, dan N-heksan dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*?
- 1.2.2 Berapa diameter daya hambat yang dihasilkan dari uji aktivitas antibakteri fraksi air, etil asetat, dan N-heksan dari ekstrak daun kemangi terhadap bakteri *Bacillus subtilis*?
- 1.2.3 Manakah fraksi yang lebih efektif sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu :

- 1.3.1 Untuk mengetahui apakah fraksi air, etil asetat, dan N-Heksan dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.
- 1.3.2 Untuk mengetahui berapa diameter daya hambat yang dihasilkan dari uji aktivitas antibakteri fraksi air, etil asetat, dan N-Heksan dari ekstrak daun kemangi terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.
- 1.3.3 Untuk mengetahui fraksi manakah yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Diharapkan penelitian ini dapat bermanfaat untuk menambah wawasan dan pengetahuan peneliti, khususnya di bidang Mikrobiologi Farmasi dalam bidang penggunaan bahan alami khususnya daun kemangi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang khasiat daun kemangi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

1.4.3 Bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi tambahan bagi perkembangan ilmu farmasi serta menambah kajian farmasi di bidang bahan alam yang dapat dikembangkan menjadi sediaan farmasi.

1.5 Hipotesis

H₀ : Fraksi air, etil asetat, dan N-Heksan dari ekstrak daun kemangi tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

H₁ : Fraksi air, etil asetat, dan N-Heksan dari ekstrak daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Daun Kemangi

1.1.1 Klasifikasi Tanaman

Indonesia memiliki beragam kearifan lokal dalam pemanfaatan herbal dalam pengobatan dan peningkatan taraf kesehatan masyarakat. Meningkatnya pemahaman masyarakat terhadap penggunaan obat herbal semakin mendorong berbagai penelitian terkait fitokimia serta manfaatnya sebagai obat (Febrina, 2018). Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan sebagai obat tradisional adalah daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum*). Kemangi banyak tersebar hampir tersebar diseluruh Indonesia karena dapat tumbuh liar maupun dibudidayakan (Angelina dkk., 2015).

Tanaman ini tumbuh ditempat terbuka maupun agak teduh dan tidak tahan terhadap kekeringan. Tumbuh kurang lebih 300 m diatas permukaan laut (Berlian dkk., 2016). Kemangi sering disebut kemangi manis dan termasuk dalam keluarga *Lamiaceae*, tumbuhan asli daerah Indo-Melayu. Kemangi termasuk salah satu dari banyak tanaman lainnya yang memiliki potensi antibakteri. Kemangi secara empiris sering digunakan sebagai untuk mengatasi sakit perut, demam dan menghilangkan bau mulut. Selain itu, kemangi juga dapat dimanfaatkan untuk mengatasi penyakit diare (Larasati dkk., 2016).

Tumbuhan ini mempunyai ciri-ciri batang berkayu jenis perdu dengan tinggi 30-150 cm, batang berbentuk persegi panjang, permukaan batang beralur, mempunyai bulu, bercabang dan warnanya hijau, mempunyai warna putih. bunga dan aroma tanaman ini sangat khas (Lina dkk., 2020).

Menurut Yuliana (2021), tanaman kemangi diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Ordo : *Lamiales*
Famili : *Lamiaceae*
Genus : *Ocimum*
Spesies : *Ocimum basilicum L.*



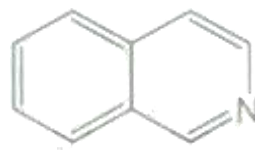
Gambar 2. 1 Daun Kemangi

(Sumber : dokumentasi pribadi)

1.1.2 Kandungan Kimia

Senyawa yang terdapat pada daun kemangi adalah senyawa fenolik, yaitu *cirsimaritin*, *cirsilineol*, *apigenin*, *isotymusine*, tanin dan asam rosmarinic, serta *eugenol* (komponen utama minyak atsiri) dalam jumlah yang cukup besar. Daun kemangi kaya akan makromineral yaitu kalsium, fosfor dan magnesium, serta mengandung beta-karoten dan vitamin C. Daun kemangi juga mengandung bahan non nutrisi antara lain senyawa flavonoid dan *eugenol*, boron, *anethole*, *arginine* dan minyak atsiri (Ihsanto., 2018).

antibakteri umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah, terbentuk kompleks protein dengan fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi, fenol dapat menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Rachmawaty dkk., 2016).

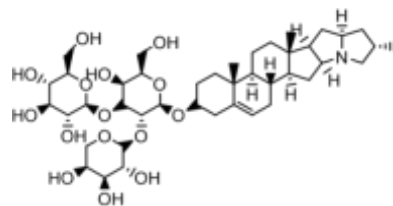


Gambar 2. 3 Struktur Kimia Minyak Atsiri

Sumber : (Melani, 2020)

3) Saponin

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri. Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis pada sel. Apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Poeloengan dan Praptiwi., 2012).

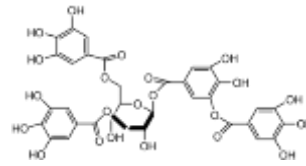


Gambar 2. 4 Struktur kimia saponin

Sumber : (Noer dkk., 2018)

4) Tanin

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel menjadi lisis. Hal ini terjadi dikarenakan tanin mempunyai target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan pada akhirnya sel bakteri akan mati. Selain itu Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Ngajow dkk., 2013).

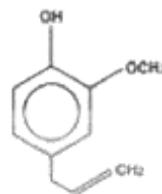


Gambar 2.5 Struktur Kimia Tanin

Sumber : (Noer dkk., 2018)

5) Alkaloid

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri. Golongan senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif (Anggraini, 2019).



Gambar 2.6 Struktur kimia alkaloid

Sumber : (Melani, 2020)

Kandungan senyawa fitokimia pada kemangi diketahui memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif seperti seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus alfa* dan *Bacillus subtilis*; Gram negatif : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*; Jamur: *Candida albicans* (Moeza, 2019).

1.1.3 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri / mikroorganisme patogen penyebab infeksi. Antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri dapat menghancurkan mikroorganisme dengan cara menghambat pembentukannya atau kerja patogennya. Secara lebih spesifik, senyawa antibakteri bersifat destruktif atau menghambat kerja bakteri.

Antimikroba dapat diklasifikasikan sebagai bakteriosidal (bakterisidal) atau bakteriostatik. Bakteriosidal apabila dapat membunuh mikroba, menyebabkan lisis sel. Sedangkan bakteriostatik apabila menghambat pertumbuhan mikroorganisme, tetapi bergantung pada sistem imun seluler dan humoral pejamu untuk membunuh mikroorganisme. Senyawa antimikroba yang memiliki spektrum kerja yang terbatas disebut antibiotik spektrum sempit. Antibiotik spektrum luas memiliki kerja terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Nur Aini, 2020).

Menurut Febrianasari (2018), berdasarkan mekanisme kerjanya dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme, antibakteri digolongkan sebagai berikut :

1. Antibakteri yang dapat menghambat sintesis dinding sel. Contohnya sefalosporin, basstrasin, penisilin, ampisilin, dan vankomisin.
2. Antibakteri yang menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel bakteri. Contohnya kolistin, pommiksin, unidazole, amfoterisin B.
3. Antibakteri yang menghambat sintesis protein. Contohnya Kloramfenikol, erithromisin, linkomisin, tetrasiklin, aminoglikasida

Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi ekstrak, jenis bakteri yang dihambat dan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung asam teikoat. Lapisan peptidoglikan terletak di bagian membran luar yang lebih tebal dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Lapisan peptidoglikan yang tebal inilah yang menyebabkan bakteri gram positif lebih peka terhadap pemberian antibakteri. Selain itu aktivitas antibakteri dapat disebabkan oleh adanya pengaruh senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tersebut (Natasya dkk., 2021).

1.1.4 Senyawa Fitokimia

Berdasarkan hasil penelitian uji fitokimia dengan menggunakan pereaksi yang berbeda, menunjukkan hasil ekstrak etanol daun kemangi mengandung golongan senyawa metabolit sekunder. Hasil uji fitokimia pada golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun kemangi terdiri dari flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Hal ini dibuktikan dengan perubahan yang timbul setelah ekstrak etanol daun kemangi diberikan larutan pereaksi (Lina, 2020).

1.2 Bakteri *Bacillus Subtilis*

Bacillus subtilis adalah sekelompok bakteri gram positif, bersifat saprofit, memiliki bentuk batang, aerobik, serta mampu membentuk spora. Bakteri tersebut dapat tumbuh dengan suhu optimum sekitar 25 – 35°C dengan pH 7 –8 (Khaira dkk., 2019). *Bacillus subtilis* memiliki ukuran sekitar 0,3 – 2,2 x 1,2 – 7,0 µm dan berflagel peritrikus, aerob atau anaerob fakultatif, heterotrofik dan positif - katalase. Permukaan sel bakteri ini ditumbuhi flagellum peritrikus secara merata (Djaenuddin dkk., 2015).

Bakteri ini merupakan organisme yang tahan terhadap lingkungan yang berkondisi ekstrim. Seperti beberapa jenis spesies *Bacillus* yang lain, *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang memiliki sifat respirasi anaerob obligat. Bakteri ini memproduksi endospora tunggal yang resisten terhadap faktor

lingkungan, misalnya panas, asam, garam, dan bakteri ini juga dapat melangsungkan dan bertahan hidup dalam waktu yang lama. Bakteri ini merupakan mikroorganisme gram positif yang masuk dalam kelompok organisme tanah. Dan termasuk dalam mikroorganisme mesofilik dan berespirasi secara aerob (Simanjuntak, 2008).

1.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Dalam uji ini, akan diukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap antibiotik. Salah satu manfaat dari uji anti bakteri alami ini yaitu mendapat satu sistem pengobatan alami yang lebih efektif dan efisien. Penentuan setiap kepekaan kuman terhadap suatu obat adalah dengan menentukan kadar obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan kuman secara in vitro. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut (Andriani dkk., 2018) :

1.3.1 Metode Difusi

Metode difusi dilakukan dengan zat antibakteri yang terlebih dahulu diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi oleh bakteri, kemudian diinkubasi. Hal yang terjadi yaitu pembentukan zona bening disekitar zat antibakteri yang digambarkan dengan daya hambat pertumbuhan bakteri oleh suatu antibakteri. Beberapa cara yang dapat dilakukan pada metode ini yaitu :

1) Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer)

Untuk mengetahui aktivitas antimikroba, piringan yang berisi antimikroba diletakkan pada media agar yang berisi mikroorganisme yang akan menyebar pada media agar tertentu. Daerah bening menunjukkan bahwa antimikroba menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada permukaan media agar.

2) *E-test*

Digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme ini digunakan untuk

memperkirakan *MIC* atau KHM (konsentrasi penghambatan minimum), yaitu konsentrasi minimum suatu zat antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

3) *Ditch-plate technique*

Dalam metode ini, sampel uji antimikroba ditempatkan dalam parit yang dibuat dengan memotong media agar menjadi dua memanjang dalam cawan petri, dan mikroorganisme uji dipilih ke arah parit yang berisi antimikroba.

4) *Cup-plate technique*

Metode ini dimulai dengan dibuat sumur pada media agar yang mengandung mikroorganisme dan sumur tersebut telah diberi antimikroba yang akan diuji.

1.3.2 Metode Dilusi

Metode ini terdiri dari metode dilusi cair dan metode dilusi padat. Metode dilusi cair dilakukan untuk mengukur *MIC* atau Kadar Hambat Minimal dan *MBC* atau Konsentrasi Bunuh Minimum. Dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambah dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba. Kemudian di inkubasi selama 18 – 24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM. Kemudian untuk metode dilusi padat, metode ini hampir sama dengan metode dilusi cair, namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan dari metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi dkk., 2008: 188-191).

1.4 Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi adalah tindakan menghilangkan komponen kimia yang larut untuk memisahkannya dari bahan yang tidak larut dengan menggunakan pelarut cair. Ekstrak simplisia mengandung senyawa aktif larut dan tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein, dll. Senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia dibedakan menjadi minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda mempengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa ini terhadap panas, udara, logam ringan dan berat, dan derajat keasaman. Mengetahui bahan aktif yang terkandung dalam simplisia akan memudahkan dalam pemilihan pelarut dan metode ekstraksi yang tepat (Ainiyyah, 2023).

Ekstraksi dilakukan dengan pelarut organik yang polaritasnya terus meningkat. Pelarut yang digunakan harus memenuhi persyaratan tertentu yaitu tidak beracun, bebas residu, murah, tidak korosif, aman dan tidak mudah meledak (Amin, 2014). Etanol adalah pelarut umum yang dapat melarutkan senyawa polar dan non-polar. Etanol merupakan senyawa yang mudah menguap, bening (tidak berwarna), berbau khas dan menimbulkan rasa terbakar di lidah. Etanol memiliki beberapa keunggulan, yaitu tidak beracun, netral, daya serap yang baik, larut dengan air dalam perbandingan apa pun, meningkatkan stabilitas obat terlarut dan tidak memerlukan panas tinggi untuk pepadatan. Penggunaan etanol sebagai pelarut cair biasanya dicampur dengan pelarut lain terutama air (Nuzantry, 2015).

Permana (2020) menyatakan bahwa metode ekstraksi berdasarkan penggunaan sistem pemanasan dibagi menjadi 2 yaitu ekstraksi dengan pemanasan seperti soxhletasi dan refluks serta ekstraksi tanpa pemanasan seperti maserasi. Pada penelitian ini akan menggunakan metode maserasi. Menurut Endarini (2016) tahapan-tahapan pada metode maserasi ini antara lain:

1. Melakukan perendaman simplisia dengan pelarut dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama 3 hari dengan pengadukan berkali-kali sampai semua bagian tanaman yang dapat larut melarut dalam cairan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah etanol.

2. Kemudian disaring dan ampas yang tersisa dipress agar memperoleh bagian cairnya saja.
3. Melakukan penguapan terhadap ekstrak yang didapat dari proses maserasi menggunakan *waterbath*

Kelebihan dalam menggunakan metode maserasi adalah alat dan cara yang digunakan sangat sederhana, dapat digunakan untuk analit baik yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan, sedangkan kelemahannya adalah menggunakan banyak pelarut. Dalam proses ekstraksi maserasi dilakukan pengadukan sesekali yang akan meningkatkan difusi senyawa aktif sampel ke dalam cairan penyari dan menghilangkan larutan pekat dari permukaan sampel untuk membawa pelarut baru ke dalam sel sehingga dapat menghasilkan ekstraksi yang lebih banyak (Arsyad, 2023).

1.5 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses memisahkan ekstrak yang telah didapatkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksinasi dilakukan karena ekstrak yang didapatkan masih merupakan campuran dari berbagai senyawa dan ekstrak sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Fraksinasi pada prinsipnya yaitu suatu proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur (Megawasti, 2021).

Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan etanol. Untuk menarik senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan etanol untuk menarik senyawa- senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, 2012).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2024 – Maret 2025.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Determinasi daun kemangi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri (Anumbra®), autoklaf (OneMed®), inkubator (Heraeus®), erlenmeyer 1000 ml (Pyrex®), kaca objek (Sail Brand®), tabung reaksi (Pyrex®), rak tabung reaksi, L. rod (pyrex®), penjepit tabung reaksi, gelas kimia 100 ml (Pyrex®), gelas ukur 10 ml (Pyrex®), *magnetic stirrer* (Joanlab®), *Vortex mixer* (Dlab®), timbangan analitik (Fujitsu®), jarum inokulum, pipet tetes, pipet ukur (Pyrex®), mikroskop binokuler (Olympus CX23®), batang pengaduk (Pyrex®), bunsen, corong, dan jangka sorong.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun kemangi, suspensi bakteri *Bacillus subtilis*, larutan standar Mc Farland, etanol 96%, *Media Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), NaCl 0,9%, FeCl₃ 5%, Magnesium, HCl pekat, CH₃COOH glasial, kloroform, pereaksi mayer, dragendorf, alkohol 70%, antibiotik *erytromycin*, BaCl, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, spiritus,

akuades steril, *aluminium foil*, kertas saring, kertas cakram, kertas coklat, kapas dan *Dimetil sulfoxide* (DMSO), N-Heksan, etil asetat, air.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan rancangan eksperimental menggunakan metode difusi cakram. Subjek dari penelitian ini adalah bakteri *Bacillus subtilis* dan objek dari penelitian ini adalah daun kemangi.

3.3.2 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Tabel definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Skala
Ekstrak etanol daun kemangi	Hasil ekstraksi daun kemangi segar menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi selama 24 jam pada suhu ruang. Proses ekstraksi meliputi perendaman daun kemangi dalam etanol, pemanasan (jika perlu), penyaringan, dan penguapan pelarut hingga diperoleh ekstrak kental.	<i>Waterbath</i>	Nominal
Aktivitas antibakteri	Kemampuan ekstrak etanol daun kemangi untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri <i>Bacillus subtilis</i> . Diukur melalui diameter zona hambat pada media pertumbuhan yang mengandung bakteri setelah diberi perlakuan dengan ekstrak.	Mengukur zona hambat	Ordinal
<i>Bacillus subtilis</i>	Kultur murni bakteri Gram positif <i>Bacillus subtilis</i> yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi.	Observasional	Nominal
Zona Hambat	Ukuran diameter (dalam milimeter) dari area di mana bakteri tidak dapat tumbuh karena adanya pengaruh zat antimikroba.	Diukur menggunakan penggaris (mm) atau jangka sorong.	Numerik

3.3.3 Fokus Penelitian

Penelitian ini difokuskan untuk mengetahui apakah fraksi fraksi dari ekstrak daun kemangi mempunyai potensi sebagai sumber senyawa alami yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

3.3.4 Sampel dan Teknik *Sampling*

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun kemangi (*Ocimum basilicum*) yang diperoleh dari Jalan Pertanian, Rt 09/Rw 11, Kecamatan Bengalon. Daun kemangi yang digunakan yaitu daun yang masih muda, berwarna hijau segar, tidak terdapat bercak putih atau coklat, dan tidak berlubang. Daun kemangi yang akan digunakan diambil pada pagi hari, sekitar pukul 06.00 – 10.00 pagi saat kandungan air dalam tanaman masih tinggi, dan pada waktu tersebut daun sedang membuka secara sempurna, belum mengalami penguapan yang diakibatkan oleh polusi udara (Sulaiman dkk., 2017).
2. Teknik *sampling* yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel acak sederhana (*Simple random sampling*), yaitu teknik pengambilan sampel dari setiap populasi secara acak sederhana, sehingga semua jenis populasi mempunyai peluang yang sama besarnya untuk diambil dan digunakan sebagai sampel. Cara pengambilan sampel dapat dilakukan secara acak dimana pemilihan sampel dan lokasi yang akan digunakan secara acak telah mewakili populasi dan wilayah secara keseluruhan (bersifat homogen) (Darmawan dkk., 2013).

3.3.5 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data untuk penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dan dilakukan sebanyak lima kali pengulangan. Digunakan antibiotik *eritromycin* sebagai kontrol positif dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif.

p0 : DMSO (kontrol negatif)

p1 : Antibiotik *eritromycin* (kontrol positif)

p2 : larutan fraksi fraksi ekstrak daun kemangi konsentrasi 5%

p3 : larutan fraksi fraksi ekstrak daun kemangi konsentrasi 10%

p4 : larutan fraksi fraksi ekstrak daun kemangi konsentrasi 20%

3.3.6 Tahap Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk mendapatkan identitas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan pada bahan utama penelitian (Diniatik dkk., 2015).

2. Pengambilan Tanaman

Pengambilan dilakukan pada pagi hari pada pukul 06.00-10.00 WITA, karena pada waktu tersebut daun sedang membuka secara sempurna, belum mengalami penguapan yang diakibatkan oleh polusi udara (Sulaiman dkk., 2017).

3. Pembuatan Simplisia Daun Kemangi

Mengumpulkan daun kemangi yang akan digunakan, kemudian dicuci bersih dengan air yang mengalir sebanyak tiga kali untuk memastikan daun bersih dari kotoran yang menempel, lalu ditiriskan kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama 2 – 3 hari. Selama proses pengeringan daun kemangi ditutup menggunakan kain hitam. Kemudian daun kemangi yang sudah kering dihaluskan dengan blender, lalu diayak menggunakan ayakan mesh 40.

4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Masukkan serbuk daun kemangi yang akan digunakan dan sudah ditimbang sebanyak 250 g ke dalam wadah yang

sesuai. Kemudian tuangkan etanol 96% sebanyak 2500 ml. Kemudian tutup rapat wadah dan simpan di tempat yang gelap dan sejuk selama tiga hari, sambil dikocok secara berkala. Lalu setelah tiga hari, pisahkan filtrat dan serbuk dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Kemudian uapkan filtrat hasil maserasi dengan menggunakan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental.

5. Pembuatan Fraksi Fraksi

Ekstrak kental 1 g dilarutkan dalam aquades 100 ml, kemudian difraksinasi dengan n-heksan 100 ml sebanyak 3x. Hasil yang diperoleh yaitu fraksi n-heksan dan fraksi air. Fraksi air difraksinasi lebih lanjut dengan etil asetat 100 mL sebanyak 3x. Hasil fraksinasi diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Kemudian fraksi dipekatkan sampai kental lalu dihitung persen rendeman yang dihasilkan. Rumus untuk menghitung persen rendemen ditunjukkan oleh persamaan 3.1.

$$\text{Rendemen fraksi} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \quad (3.1)$$

6. Peremajaan biak bakteri

Satu ose bakteri uji *Bacillus subtilis* diinokulasikan ke media NA steril dalam tabung reaksi yang berisi agar miring, kegiatan ini dilakukan secara aseptis dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Kemudian bakteri yang telah diinokulasikan akan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

7. Pembuatan suspensi Bakteri *Bacillus subtilis*

Pembuatan suspensi bakteri dimulai dengan mengambil biakan bakteri menggunakan jarum ose pada media NA yang telah diinkubasi selama 24 jam. Kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% lalu divortex hingga homogen. Suspensi bakteri tersebut

kemudian dibandingkan kekeruhannya dengan larutan standar McFarland.

8. Pembuatan Larutan Eritromisin

Larutan kontrol positif dibuat dari sediaan obat tablet eritromycin 500 mg dengan cara tablet eritromisin digerus. Setelah itu ditimbang 65 mg dan dilarutkan dalam 50 ml aquades, selanjutnya dibuat dengan cara diambil 1 ml larutan dan ditambahkan aquades hingga 10 ml untuk memperoleh larutan eritromisin $5\mu\text{g}/50\mu\text{l}$. Larutan ini digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian (Melani, 2020).

3.4 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi

1. Uji Organoleptik

Uji organoleptik disebut juga uji indera atau uji sensori merupakan cara pengujian dengan menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap produk. Indera yang dipakai dalam uji organoleptik adalah indera penglihat/mata, indera penciuman/hidung, indera pengecap/lidah, indera peraba/tangan. Kemampuan alat indera inilah yang akan menjadi kesan yang nantinya akan menjadi penilaian terhadap produk yang diuji sesuai dengan sensor atau rangsangan yang diterima oleh indera (Gusnadi dkk., 2021).

2. Uji Rendeman

Ekstrak daun kemangi dibuat dengan menggunakan metode maserasi, yaitu dengan melarutkan serbuk daun kemangi dan etanol didalam toples, kemudian simpan rendaman selama kurang lebih tiga hari, pada suhu ruangan, serta terhindar dari cahaya matahari langsung, dan sambil dikocok secara berkala. Kemudian Setelah 72 jam, hasil filtrat dan serbuk kemudian dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Hasil filtrat kemudian diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya menghitung rendemen yang diperoleh setelah selesai proses ekstraksi Dimana

perhitungan rendemen dapat dihitung menggunakan rumus yang ditunjukkan oleh persamaan 3.2 (Febriansyah dkk., 2019) .

$$\% \text{ Rendeman} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \quad (3.2)$$

3. Uji Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak daun kemangi ditambahkan ke 10 ml HCl 2N. Kemudian dipanaskan selama dua menit sambil terus diaduk, lalu didinginkan. Setelah dingin, filtrat ditambahkan HCl 5 ml dan pereaksi Wagner. Endapan yang terbentuk menunjukkan adanya alkaloid.

b. Uji Saponin

Ekstrak daun kemangi ditambahkan air panas sebanyak 5 ml dan dikocok kuat-kuat. Uji positif adanya saponin pada larutan ditandai dengan terbentuknya busa/buih 1-10 cm tidak kurang 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang.

c. Uji Tanin

Sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambah dengan 5 tetes larutan FeCl₃ 5%. Positif menandakan adanya tannin bila terjadi perubahan warna biru tua atau hitam kehijauan (Surahmaida, 2019).

d. Uji Flavonoid

Ekstrak daun kemangi ditambah 5 ml etanol dan beberapa tetes FeCl₃ 5% sampai terjadi perubahan warna. Kandungan flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru, ungu, hijau, merah maupun hitam. Apabila sampai 20 tetes FeCl₃ 5% belum terjadi perubahan warna, maka flavonoid negatif.

3.5 Standarisasi Ekstrak

1. Penetapan Kadar air

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang dalam wadah yang ditara. Dikeringkan pada suhu 105 ° C selama 5 jam di dalam oven dan setelah itu diimbang. Kadar air dihitung dalam persen terhadap berat sampel awal (Andasari dkk., 2021).

2. Penetapan bobot jenis
Gunakan piknometer bersih dan kering, piknometer yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu. Piknometer diisi dengan aquadest kemudian diatur suhunya 25°C , dan ditimbang aquadest dalam piknometer dikeluarkan dan di keringkan untuk dimasukkan ekstrak cair 5%. Ekstrak cair dimasukkan kedalam piknometer kemudian diatur suhu 25°C dan ditimbang (Andasari dkk., 2021).
3. Penetapan kadar abu total
Ekstrak ditimbang, kemudian dimasukan kedalam cawan porselin yang telah dipanaskan dan ditara. Kemudian masukan kedalam tanur atau tungku pembakaran pada suhu $500 - 550^{\circ}\text{C}$ hingga menjadi abu. Abu dikeluarkan dan dimasukan kedalam desikator hingga dingin. Ditimbang dan hitung persen kadar abu total pada sampel (Mewar dkk., 2023).
4. Bebas pelarut etanol
Sejumlah ekstrak ditambahkan asam sulfat pekat kemudian ditambahkan asam asetat glasial dan dipanaskan. Hasil yang diperoleh dilakukan penambahan asam sulfanilat, NaOH, HCl dan NaNO_2 kemudian dipanaskan. Ekstrak dinyatakan bebas etanol bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Setyani dkk., 2016)

3.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi

3.6.1 Tahap Pelaksanaan

1. Alat-alat yang diperlukan dicuci kemudian setelah itu alat-alat tersebut dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka, setelah kering dibungkus dengan kertas tahan panas. Tabung reaksi dan gelas erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat alat dari kaca disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Jarum inokulasi atau ose disterilkan dengan pemanasan langsung hingga memijar.
2. Timbang media *Nutrient agar* (NA) sebanyak 0,3 g dan dilarutkan dalam 15 ml aquades menggunakan erlenmeyer. Setelah itu, dihomogenkan dengan *stirrer* diatas penangas air

tetapi tidak sampai mendidih. Kemudian sebanyak 5 ml dituangkan masing-masing pada 2 tabung reaksi steril dan ditutup dengan *aluminium foil*. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, kemudian media dipindahkan tabung reaksi, lalu dibiarkan mengeras dalam posisi miring (Gabriella *et al.*, 2017).

3. Media *Muller Hinton Agar* (MHA) dibuat dengan menimbang MHA sebanyak 20 g kemudian dilarutkan ke dalam erlenmeyer dengan akuades hingga mencapai volume 500 ml, kemudian dipanaskan diatas *hotplate* hingga homogen. Kemudian setelah mendidih media disterilisasi menggunakan *autoclaf* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah media disterilkan, lanjut media dituang ke dalam cawan petri sekitar 25 ml dan dibiarkan hingga memadat. (Nurhayati *et al.*, 2020).
4. Untuk pembuatan Larutan *McFarland* dimulai dengan mengambil larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi tutup ulir. Kemudian dipipet juga larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml, dan dicampurkan kedalam tabung reaksi tutup ulir yang sudah berisi larutan BaCl₂ 1 %. Selanjutnya larutan ini di vortex sampai tercampur sempurna. Kemudian dilakukan standar kekeruhan suspensi bakteri sesuai dengan standar *McFarland* (Rosman *et al.*, 2020).
5. Pembuatan larutan uji dengan mengambil ekstrak daun kemangi sebanyak 0,05 g untuk konsentrasi 5%, 0,10 g untuk konsentrasi 10%, 0,20 g untuk konsentrasi 20%. Lalu masing masing ditambahkan DMSO 1% 6 ml untuk konsentrasi 5%, 5 ml untuk konsentrasi 10%, dan 4 ml untuk konsentrasi 20%. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik *eritromycin* dan untuk kontrol negatif menggunakan larutan DMSO 1%.

3.6.2 Tahap Uji Aktivitas Antibakteri

Larutan uji fraksi ekstrak daun kemangi dengan berbagai konsentrasi (5%, 10%, dan 20%), larutan DMSO 1% sebagai kontrol negatif, dan larutan antibiotik *eritromycin* sebagai kontrol positif. Kemudian biakkan bakteri yang diuji akan ditanam pada media MHA. Lalu celupkan kertas cakram dengan diameter 6 mm kedalam masing masing konsentrasi ekstrak dengan menggunakan pinset yang telah disterilkan, lalu diletakkan pada permukaan media yang sudah diinokulasi bakteri secara aseptis, kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah 24 jam akan terbentuk zona hambat berupa zona bening di sekeliling kertas cakram. Diameter zona hambat tersebut diamati dan diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter kemudian dikurangi dengan diameter kertas cakram (6 mm). Uji dilakukan dengan 5 kali pengulangan.

Berikut ini perhitungan pengulangan perlakuan pada sampel menggunakan rumus yang ditunjukkan persamaan 3.3 (Suhaerah dkk., 2021)

$$(t-1)(r-1) \geq 15 \quad (3.3)$$

Keterangan : t = Jumlah perlakuan

r = Jumlah ulangan

n = Jumlah total sampel

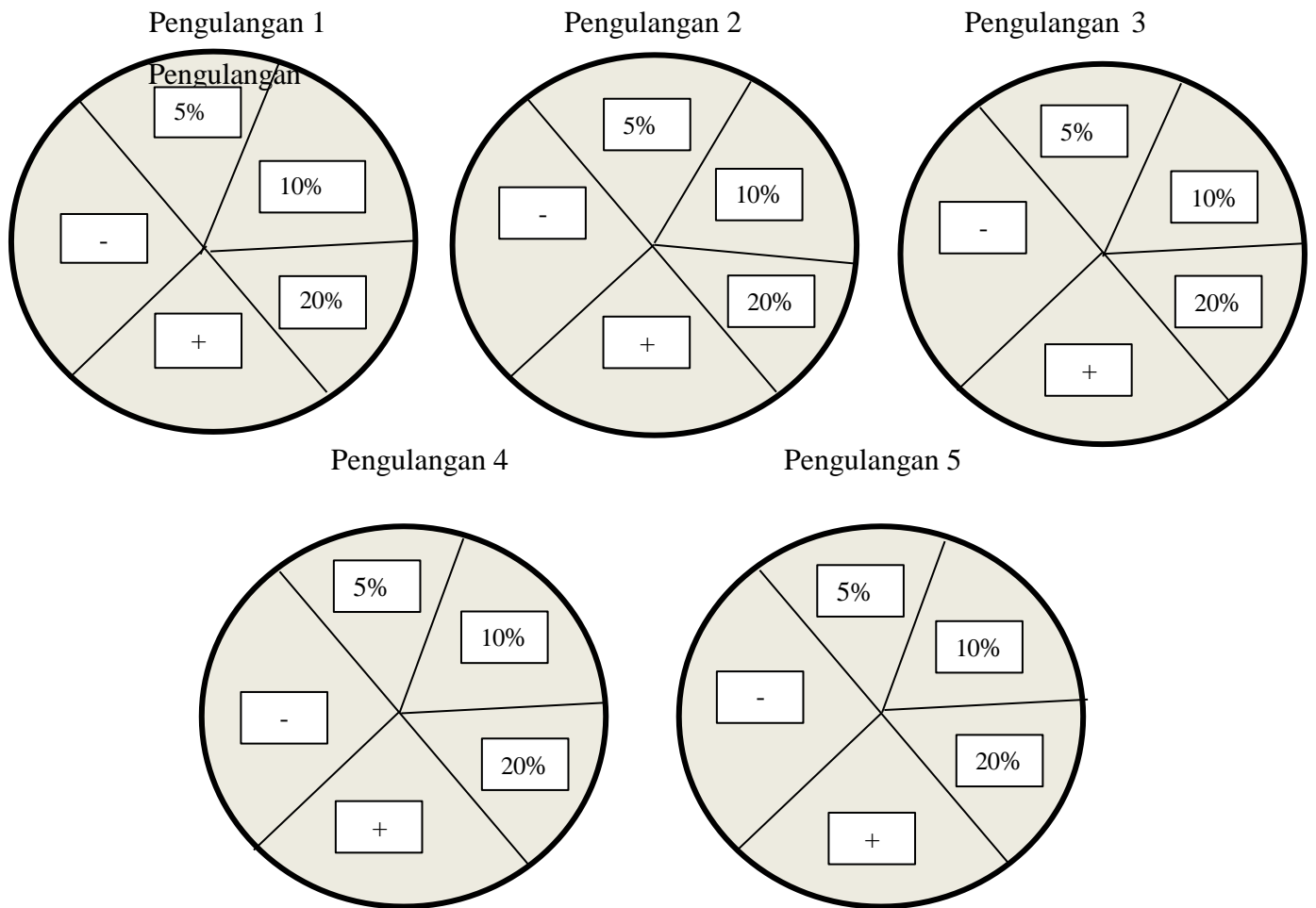
Pada penelitian ini jumlah perlakuan yaitu 5, maka perhitungannya sebagai berikut :

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 > 15$$

$$r = \frac{4+15}{4} = \frac{19}{4} = 4,75 \sim 5 \text{ kali pengulangan}$$



Gambar 3. 1 Tahap pengujian bakteri

Keterangan gambar 3.1 Tahap pengujian bakteri

p0 : DMSO (kontrol negatif)

p1 : Antibiotik *eritromycin* (kontrol positif)

p2 : larutan fraksi fraksi ekstrak daun kemangi konsentrasi 5%

p3 : larutan fraksi fraksi ekstrak daun kemangi konsentrasi 10%

p4 : larutan fraksi fraksi ekstrak daun kemangi konsentrasi 20%

3.6.3 Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Diamati zona hambat/zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram kemudian diukur diameter zona hambat secara horizontal dan vertikal. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan cara mengukur diameter keseluruhan dikurangi diameter kertas cakram 6 mm.

Tabel 3. 2 Diameter Zona Hambat

Diameter	Kekuatan Hambat
<5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
>10 – 20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat

Diameter zona hambat dari masing masing perlakuan dan nilainya dirata rata sehingga diperoleh diameter zona hambat pada masing masing ekstrak daun kemangi. Kemudian dilakukan penghitungan zona hambat dengan menggunakan rumus :

$$L : \frac{(Dv-Dc)+(Dh-Dc)}{2} \quad (3.4)$$

Keterangan :

L : Lebar zona hambat

Dv : Diameter zona hambat vertical

Dh : Diameter zona hambat horizontal

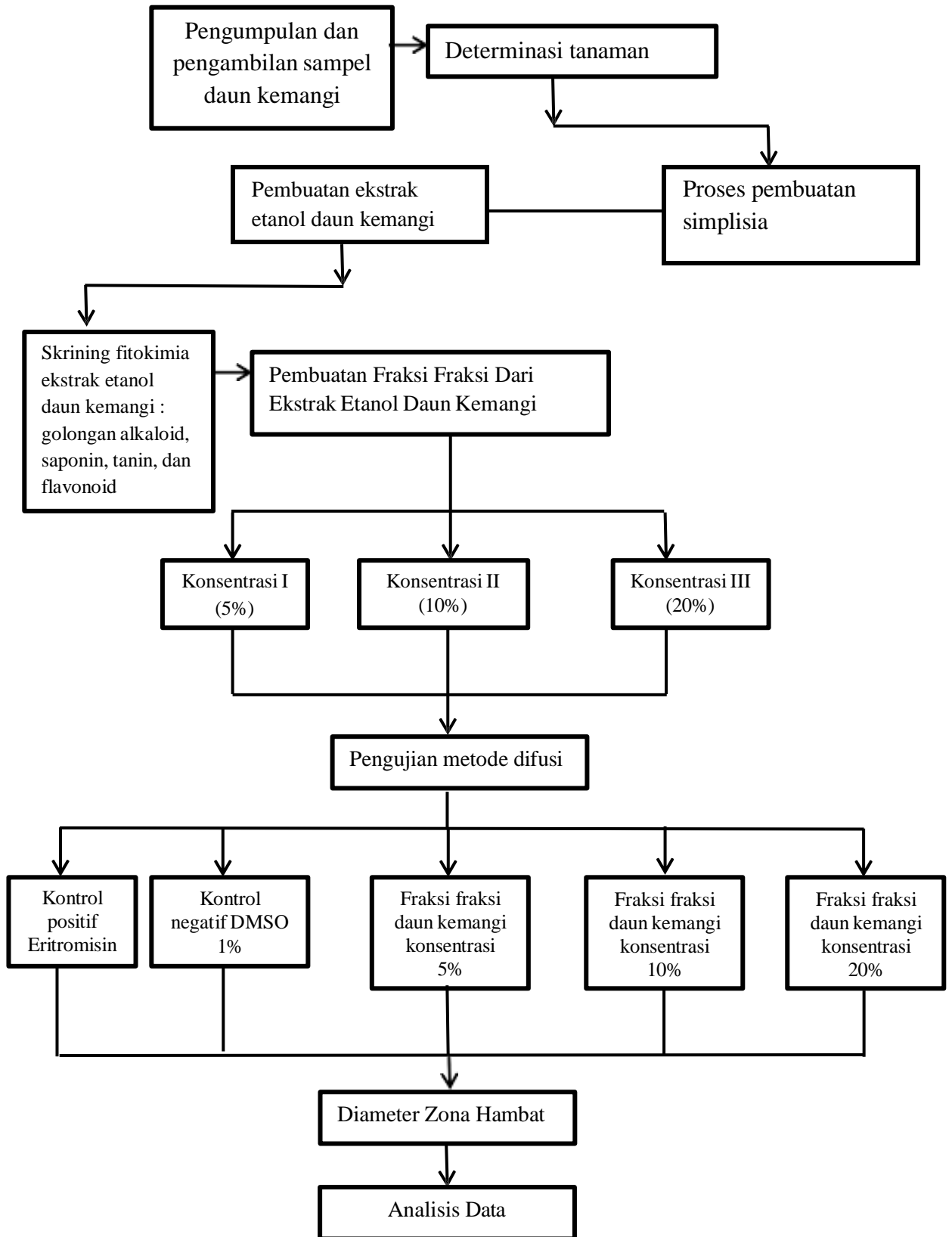
Dc : Diameter cakram

3.6.4 Analisis Data

Data yang dipakai penelitian ini adalah hasil data yang didapat dari uji yang dilakukan terhadap *Bacillus subtilis* dengan menggunakan metode difusi cakram. Ketika sudah mendapatkan hasil, selanjutnya dilakukan tabulasi hasil penelitian dengan menggunakan kategori yang telah ditetapkan. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan *software* SPSS IBM 27. Diuji sensitifitas bakteri *Bacillus subtilis* terhadap masing masing konsentrasi fraksi yang berbeda, untuk melihat ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari ekstrak terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Lalu dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* jika data terdistribusi normal, yaitu jika nilai Sig > 0,05. Kemudian jika data tidak terdistribusi normal, yaitu jika nilai Sig <0,05 maka menggunakan uji *Kruskall-Wallis* (Rasyid dkk., 2020).

3.7 Kerangka Penelitian

Gambar 3. 2 Alur Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tumbuhan Daun Kemangi

Daun kemangi yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Jalan Perkebunan, RT 09, Desa Sepaso Barat, Bengalon, Kutai Timur, Kalimantan Timur. Selanjutnya daun kemangi dideterminasi untuk melihat dan mengidentifikasi identitas tumbuhan yang akan digunakan adalah benar, serta untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan dan penggunaan sampel. Determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil uji determinasi dengan nomor surat 349/UNI.7.4.08/LL/2024, menunjukkan tumbuhan yang digunakan adalah benar *Ocimum tenuiflorum L.* dengan *family lamiaceae* (Lampiran 1).

4.2 Pembuatan Simplisia

Tahapan proses pembuatan simplisia, yaitu mulai dari pengumpulan bahan baku yang dilakukan dengan cara memanen atau mengumpulkan bahan segar langsung dari tanamannya yang diperoleh dari Jalan Perkebunan, RT 09, Desa Sepaso Barat, Bengalon, Kutai Timur. Proses selanjutnya yaitu sortasi, proses ini dilakukan pemilahan hasil panen ketika tanaman masih segar dengan cara memisahkan tanah, kerikil, rumput liar dan bahan tanaman lainnya yang tidak diinginkan, selain itu juga bisa memisahkan bagian tanaman yang cacat atau rusak dimakan ulat (Gunawan, 2010).

Pencucian daun kemangi menggunakan air bersih mengalir dan pencucian dilakukan sesingkat mungkin. Tahap yang utama yaitu proses pengeringan, pada proses ini untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan dan tahan lama) (Riyani, 2016).

Pada penelitian ini dilakukan pengeringan pada suhu ruang, dan juga menggunakan sinar matahari langsung dengan menggunakan penutup kain hitam yang dilakukan selama kurang lebih 7 hari. Tujuan pengeringan dengan penutup kain hitam yaitu untuk menghalangi sinar matahari agar tidak langsung mengenai daun kemangi sehingga kerusakan zat aktif karena cahaya dapat diminimalkan. Setelah itu, simplisia dilakukan penyerbukan menggunakan blender simplisia dan diayak menggunakan ayakan *mesh* 40.

Tabel 4. 1 Hasil Pembuatan Simplisia Daun Kemangi

No	Proses	Hasil
1.	Pengumpulan daun kemangi	4 kg
2.	Berat daun kemangi setelah pengeringan	347.243 g
3.	Berat simplisia daun kemangi setelah proses penghalusan dan pengayakan	309.819 g

4.3 Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi simplisia daun kemangi dilakukan di Laboratorium Fitokimia STIKES Dirgahayu Samarinda. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut suatu pelarut yang didestilasi sampai diperoleh maserat jernih di dalam botol gelap pada suhu kamar dan sesekali diaduk. Serbuk simplisia daun kemangi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:1 kemudian didiamkan 72 jam sambil diaduk sesekali.

Etanol dipilih karena bersifat semi-polar, mampu bercampur dengan air dalam berbagai rasio, serta memiliki kemampuan untuk mengekstrak berbagai jenis senyawa bioaktif seperti alkaloid, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Senyawa seperti lemak, malam, tanin, dan saponin diketahui hanya sedikit larut dalam etanol. Selain itu, etanol juga dianggap ekonomis dan aman digunakan dalam proses ekstraksi bahan alam (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Waktu yang ideal untuk melakukan ekstraksi adalah selama 72 jam atau sekitar 3 hari. Waktu maserasi yang optimal menyebabkan terjadinya kontak antara sampel dan pelarut lebih intensif sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila didukung dengan adanya pengadukan agar kontak antara sampel dan pelarut semakin sering terjadi, sehingga proses ekstraksi lebih sempurna (Koirewoa, 2008).

Lalu dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring, kemudian filtrat hasil saringan disimpan terpisah. Kemudian dilakukan remaserasi dengan menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:1, kemudian hasil maserasi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental (Ahmadita, 2017).

Tabel 4. 2 Hasil % Rendemen ekstrak etanol 96% Daun kemangi

Bobot Ekstrak (g)	Bobot simplisia (g)	Persentase
39,16 g	300 g	13,05%

Pada uji rendeman didapatkan hasil rendeman ekstrak daun kemangi sebesar 13,05%. Nilai rendemen dikatakan baik jika nilainya >10%. Pada penelitian Budiyanto menyatakan bahwa semakin tinggi nilai rendemen, menunjukkan ekstrak yang dihasilkan semakin besar, hal ini berarti bahwa semakin banyak juga zat zat berkhasiat yang diperoleh dan terkandung dalam ekstrak daun kemangi (Budiyanto, 2015).

4.4 Fraksinasi

Pada proses fraksinasi ekstrak etanol daun kemangi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair, yaitu menggunakan pelarut yang tidak bercampur satu sama lain, sehingga senyawa yang terkandung di dalamnya akan terpisah berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut air, etil asetat dan n-heksan, dan dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

Tabel 4. 3 Hasil % Rendemen Fraksi Fraksi Ekstrak Daun kemangi

Jenis Fraksi	Berat Fraksi (g)	Berat Ekstrak (g)	Persentase
Air	97,13	3	32,37%
Etil Asetat	97,81	3	32,60%
N-Heksan	74,98	3	24,99%

Dari 39,16 gram ekstrak etanol daun kemangi, diperoleh 3 fraksi, yaitu fraksi air sebanyak 3 gram dengan rendemen 32,37%, fraksi etil asetat sebanyak 3 gram dengan rendemen 32,60%, dan fraksi n-heksan sebanyak 3 gram dengan rendemen 24,99%. Hasil rendemen yang berbeda dari tiap fraksi berkaitan dengan banyaknya senyawa yang terkandung dalam daun kemangi. Pengulangan pada proses fraksinasi bertujuan untuk efisiensi dalam proses penyarian senyawa. Penyarian yang baik diperoleh jika jumlah ekstraksi yang dilakukan secara berulang dengan menambahkan jumlah pelarut sedikit demi sedikit (Khopkar, 2013).

4.5 Standarisasi Simplisia dan Ekstraksi

Tabel 4. 4 Hasil Standarisasi Daun Kemangi

Parameter	Uji	Hasil
Spesifik	Organoleptis	Bentuk : Serbuk Bau : Khas beraroma daun kemangi yang cukup menyengat Warna : Hijau Tua Kehitaman
Parameter non spesifik	Penetapan kadar air	14%
	Penetapan bobot jenis	0,908 gram
	Penetapan kadar abu total	12%
	Bebas pelarut etanol	Negatif

Pemeriksaan organoleptik serbuk simplisia daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum L.*) dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan bau menggunakan panca indera. Parameter organoleptik simplisia bertujuan memberikan pengenalan awal terhadap simplisia dan ekstrak menggunakan panca indera dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. Pada tabel 4.4, terdapat hasil standarisasi simplisia daun

kemangi, dimana pada pengujian organoleptik simplisia daun kemangi berbentuk serbuk, memiliki bau khas daun kemangi, dan warna hijau tua.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengujian penetapan kadar air, penetapan bobot jenis, penetapan kadar abu total, dan bebas pelarut etanol. Pada uji penetapan kadar abu total pada penelitian ini didapatkan hasil kadar abu total dari simplisia daun kemangi adalah 12%. Hasil ini memenuhi persyaratan kadar abu total simplisia yang tidak lebih dari 16,6% (Depkes RI, 2016). Penetapan kadar abu dilakukan untuk mengetahui jumlah abu yang terdapat pada suatu bahan terkait dengan mineral dari bahan alam. Kemudian pada uji penetapan kadar air, didapat hasil 14%. Syarat penetapan kadar air adalah kurang dari 10%, hasil penetapan kadar air yang didapatkan melebihi standar yang ditetapkan. Hal ini dapat disebabkan penyimpanan ekstrak yang tidak tepat, apabila ekstrak disimpan dalam wadah / tempat yang lembap dapat menyebabkan ekstrak menyerap kelembapan dari lingkungan, sehingga bisa menyebabkan kadar air meningkat (Winangsih dkk., 2013). Penetapan kadar air dilakukan untuk menetapkan residu air setelah proses pengentalan atau pengeringan. Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dan mikroba dalam ekstrak, juga untuk menjaga kualitas dari ekstrak.

Penentuan bobot jenis bertujuan untuk memberi batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai menjadi ekstrak kental yang masih dapat dituang, bobot jenis juga terkait dengan kemurnian ekstrak dari kontaminasi. Hasil yang didapat adalah 0,908 gram. Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi. Ekstrak dikatakan bebas etanol bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol. Pada pengujian ini didapatkan hasil tidak ada bau etanol yang khas, hanya terdapat bau ekstrak (Tivani dkk., 2022).

4.6 Skrining Fitokimia

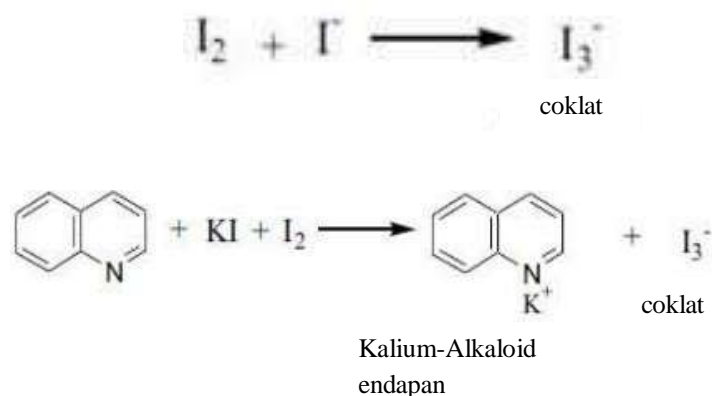
Tabel 4. 5 Hasil skrining fitokimia Simplisia Daun Kemangi

Uji	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	Wagner	Terbentuknya endapan coklat	+
Saponin	HCl	Terbentuk buih/busanya	+
Tanin	FeCl ₃	Terbentuknya perubahan warna menjadi biru tua atau hitam kehijauan	+
Flavonoid	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau/hitam	+

Keterangan : (+) Terdapat senyawa yang diuji

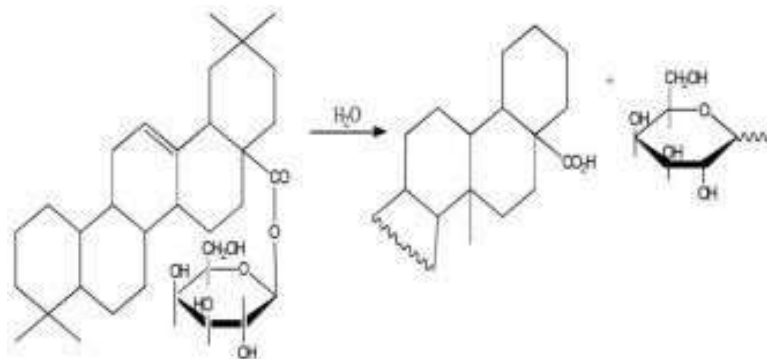
Skrining fitokimia dilakukan untuk memberi informasi terkait golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol daun kemangi, yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Hasil dari skrining fitokimia ekstrak etanol daun kemangi dapat dilihat pada tabel 4.5. Hasil skrining fitokimia menunjukkan hasil positif pada golongan senyawa alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin.

Penambahan pereaksi wagner ke dalam sampel yang mengandung alkaloid akan menimbulkan reaksi antara alkaloid dan iodin. Reaksi ini menghasilkan kompleks alkaloid-iodin yang tidak larut dalam air dan mengendap sebagai endapan berwarna merah kecoklatan (Sangkal *et al.*, 2020).



Gambar 4. 1 Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi wagner (Rahmayani, 2013)

Penambahan HCl pada pengujian saponin ini menyebabkan meningkatnya kepolaran senyawa saponin, sehingga terjadi perubahan letak gugus penyusunnya.



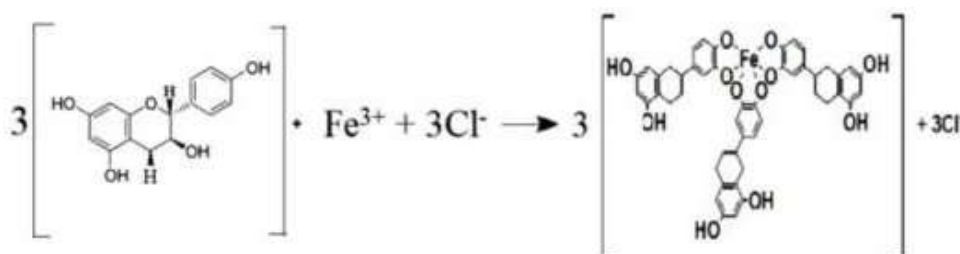
1-Arabinopiriosil-3 β -asetiloleanolat

Aglikon

Glukosa

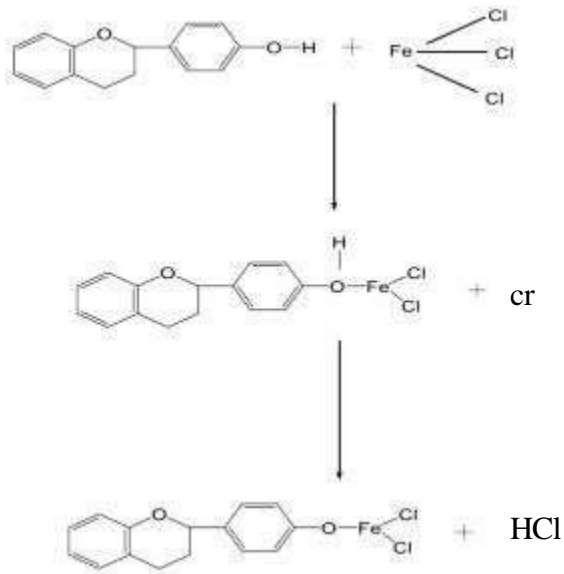
Gambar 4. 2 Reaksi senyawa saponin dengan pereaksi HCl (Nugrahani dkk., 2016)

Kemudian pada pengujian tanin, terjadinya perubahan warna menjadi biru kehitaman disebabkan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dengan ion FeCl₃ (Datu *et al.*, 2021).



Gambar 4. 3 Reaksi senyawa tanin dengan pereaksi FeCl₃ (Nurjannah dkk., 2021)

Flavonoid berperan sebagai antibiotik dengan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen, sehingga struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil dan rusak (Rohama *et al.*, 2023).



Gambar 4. 4 Reaksi senyawa flavonoid dengan pereaksi FeCl₃ (Nurjannah dkk., 2021)

Mekanisme kerja dari senyawa alkaloid adalah mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri. Penambahan HCl pada pengujian saponin menyebabkan meningkatnya kepolaran senyawa saponin sehingga terjadi perubahan letak gugus penyusunnya. Timbulnya buih menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Nugrahani *et al.*, 2016). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein karena zat aktif permukaan saponin mirip dengan detergen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri karena tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran sel akan dirusak (Anggraeni *et al.*, 2023).

Mekanisme kerja tanin adalah dengan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis, hal ini dikarenakan tanin memiliki target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel bakteri akan mati. Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri sehingga dapat mengganggu jalannya protein pada lapisan sel.

Efek tanin sebagai antibakteri disebabkan oleh kemampuan tanin untuk membentuk kompleks polisakarida yang dapat merusak dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri dan menyebabkan kematian bakteri (Nor *et al.*, 2018). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri. Flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat merusak membran sel bakteri.

Pada pengujian fitokimia yang dilakukan mendapat hasil yang berbeda yang biasanya disebabkan oleh bermacam macam faktor. Faktor yang dapat mempengaruhi perbedaan hasil fitokimia adalah perbedaan metode ekstraksi, pelarut yang digunakan, dan juga lingkungan. Pemilihan metode ekstraksi yang tidak tepat dapat membuat senyawa pada tanaman rusak. Selain itu, pemilihan pelarut juga sangat penting untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang maksimal dengan perubahan sifat fungsional yang minimal. Pemilihan pelarut yang tidak sesuai memungkinkan senyawa aktif yang diinginkan tidak dapat tertarik dengan baik dan sempurna. Kemudian faktor yang mempengaruhi lingkungan adalah suhu, kelembapan udara, intensitas cahaya dan juga pH tanah dapat mempengaruhi metabolit primer dan sekunder suatu tanaman. Faktor ini dapat mempengaruhi metabolit sekunder secara kualitatif dan kuantitatif sehingga bioaktivitas dapat bervariasi, yang secara tidak langsung kandungan metabolit sekunder yang berbeda dapat menimbulkan aktivitas yang berbeda beda (Riwanti *et al.*, 2019).

4.7 Uji Aktivitas Antibakteri

4.7.1 Rata Rata Diameter Zona Hambat

Tabel 4. 6 Diameter zona hambat fraksi air ekstrak daun kemangi terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata rata ± SD	Kategori Daya Hambat
	P1	P2	P3	P4	P5		
K1	6,9	6,37	5,32	4,41	4,83	5,56±1,04	Sedang
K2	11,29	8,89	8,07	9,78	7,17	9,04±1,58	Sedang
K3	11,24	12,17	12,54	8,51	6,37	10,16±2,64	Kuat
K+	20,97	22,03	22,04	21,74	22,69	21,89±0,62	Sangat kuat
K-	0	0	0	0	0	0	Tidak ada daya hambat

Keterangan : Lemah (≤ 5 mm), Sedang (5-10 mm), Kuat (10-20 mm), Sangat kuat (≥ 20 mm)

Keterangan :

K1 : Konsentrasi Fraksi Air 5%

K2 : Konsentrasi Fraksi Air 10%

K3 : Konsentrasi Fraksi Air 20%

K4 : Kontrol Positif (eritromisin)

K5 : Kontrol Negatif (DMSO 1%)

P1 : Pengulangan pertama

P2 : Pengulangan kedua

P3 : Pengulangan ketiga

P4 : Pengulangan Keempat

P5 : Pengulangan Kelima

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan dengan menggunakan masing masing fraksi ekstrak daun kemangi terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 5%, 10% dan 20%, didapatkan rata - rata diameter zona hambat dari fraksi air sebesar 5,56 mm, 9,04 mm, dan 10,16 mm. Dari ketiga konsentrasi didapatkan pada konsentrasi 20% yang memiliki aktivitas antibakteri paling besar.

Tabel 4. 7 Diameter zona hambat fraksi etil asetat ekstrak daun kemangi terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata rata ± SD	Kategori Daya Hambat
	P1	P2	P3	P4	P5		
K1	5,25	9,74	9,53	16,87	8,24	9,92±4,27	Sedang
K2	8,95	14,07	12,8	15,71	11,14	12,53±2,61	Kuat
K3	7,7	14,53	11,85	13,01	9,15	11,24±2,79	Kuat
K+	21,59	20,92	20,55	21,72	22,29	21,41±0,68	Sangat kuat
K-	0	0	0	0	0	0	Tidak ada daya hambat

Keterangan : Lemah (≤ 5 mm), Sedang (5-10 mm), Kuat (10-20 mm), Sangat kuat (≥ 20 mm)

Keterangan :

K1 : Konsentrasi Fraksi Etil asetat 5%
 K2 : Konsentrasi Fraksi Etil asetat 10%
 K3 : Konsentrasi Fraksi Etil asetat 20%
 K4 : Kontrol Positif (eritromisin)
 K5 : Kontrol Negatif (DMSO 1%)

P1 : Pengulangan pertama
 P2 : Pengulangan kedua
 P3 : Pengulangan ketiga
 P4 : Pengulangan keempat
 P5 : Pengulangan kelima

Pada fraksi Etil asetat didapatkan rata – rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 9,92 mm, 12,53 mm, dan 11,24 mm. Dimana pada fraksi etil asetat 10% memiliki zona hambat paling besar. Hal ini dikarenakan etil asetat merupakan senyawa non polar yang kemungkinan lebih banyak menarik kandungan senyawa yang terkandung dalam senyawa polar dan non polar.

Tabel 4. 8 Diameter zona hambat fraksi N-Heksan ekstrak daun kemangi terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata rata ± SD	Kategori Daya Hambat
	P1	P2	P3	P4	P5		
K1	6,02	7,58	5,74	7,58	7,05	6,79±0,86	Sedang
K2	7,68	10,57	7,44	10,99	10,18	9,37±1,68	Sedang
K3	11,65	14,10	14,19	12,79	12,19	12,98±1,13	Kuat
K+	19,81	22,35	23,62	23,19	23,42	22,47±1,56	Sangat kuat
K-	0	0	0	0	0	0	Tidak ada daya hambat

Keterangan : Lemah (≤ 5 mm), Sedang (5-10 mm), Kuat (10-20 mm), Sangat kuat (≥ 20 mm)

Keterangan :

K1 : Konsentrasi Fraksi N-Heksan 5%
 K2 : Konsentrasi Fraksi N-Heksan 10%
 K3 : Konsentrasi Fraksi N-Heksan 20%
 K4 : Kontrol Positif (eritromisin)
 K5 : Kontrol Negatif (DMSO 1%)

P1 : Pengulangan pertama
 P2 : Pengulangan kedua
 P3 : Pengulangan ketiga
 P4 : Pengulangan Keempat
 P5 : Pengulangan Kelima

Pada fraksi n-heksan, rata - rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 6,79 mm, 9,37 mm, dan 12,98 mm. Didapatkan konsentrasi yang paling besar aktivitas antibakterinya adalah konsentrasi 20%.

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi fraksi ekstrak daun kemangi dilakukan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yang digunakan sebagai bakteri uji. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram, dimana cara ini merupakan cara yang sering digunakan dalam uji aktivitas antibakteri yang dilakukan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif. Berdasarkan hasil dari rata rata diameter zona hambat, fraksi air, etil asetat dan n-heksan daun kemangi terhadap bakteri *Bacillus subtilis* terbukti menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.6, tabel 4.7, dan tabel 4.8 yang menunjukkan bahwa pada fraksi air, etil asetat dan n-heksan memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda – beda ditandai dengan terbentuknya zona bening .

Daya hambat dari fraksi air termasuk dalam kategori sedang dan kuat, kemudian untuk fraksi etil asetat, daya hambat yang dihasilkan masuk dalam kategori sedang dan kuat, dan untuk fraksi n-heksan, daya hambat yang dihasilkan juga termasuk dalam kategori sedang dan kuat. Diameter zona hambat yang dihasilkan dari ketiga fraksi tersebut tidak melebihi kontrol positif antibiotik eritromisin yang digunakan dalam menghambat bakteri *Bacillus subtilis* yang memiliki rata - rata diameter zona hambat pada fraksi air sebesar 21,89 mm, fraksi etil asetat sebesar 21,41 mm, dan fraksi n-heksan sebesar 22,47 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat.

Diameter zona hambat yang diperoleh pada fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dibanding kedua fraksi lainnya. Hal ini dikarenakan pada fraksi etil asetat, zona hambat yang terbentuk lebih besar dibanding fraksi yang lain. Dari nilai rata - rata yang dihasilkan menunjukkan pada fraksi etil asetat konsentrasi 10% rata rata diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar dibanding konsentrasi 10% pada fraksi yang lain. Pada

fraksi etil asetat konsentrasi 10%, diameter zona hambat yang dihasilkan lebih besar dibanding konsentrasi 20%, hal ini kemungkinan dapat disebabkan pada konsentrasi 10% terdapat keseimbangan yang optimal antara konsentrasi senyawa antibakteri yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan konsentrasi ini cukup untuk mencapai efek yang diinginkan, juga kemungkinan terdapat keseimbangan yang baik antara mekanisme pertahanan bakteri dan efek antibakteri pada konsentrasi ini, sehingga pada konsentrasi ini diameter zona hambat yang dihasilkan lebih besar dibanding konsentrasi 20%, namun kedua konsentrasi tersebut masih dalam kategori zona hambat kuat (Rastina *et al.*, 2015).

Perbedaan daya hambat ini dipengaruhi oleh kandungan senyawa antibakteri yang ada pada tiap konsentrasinya. Semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin banyak pula zat aktif yang terdapat dalam fraksi etil asetat yang berperan sebagai antibakteri sehingga penghambatan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* juga semakin besar. Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semipolar, yang memiliki kemungkinan dapat menarik senyawa polar dan non polar (Murdiansyah dkk, 2020). Hal tersebut dapat membuat fraksi etil asetat dalam pengujian ini menjadi fraksi yang teraktif dengan membentuk daya hambat paling besar dibandingkan dengan fraksi yang lain.

Perbedaan aktivitas antibakteri pada fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dapat dipengaruhi oleh sifat polaritas dari senyawa dengan polaritas dari komponen penyusun dinding sel dari bakteri. *Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif yang memiliki kandungan peptidoglikan yang tinggi dan lipid yang rendah (Simanungkalit dkk., 2020). Perbedaan zona hambat yang dihasilkan juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu sensitivitas organisme, pH, jenis mikroba, bahan antimikroba yang

digunakan, media kultur, kondisi inkubasi, dan juga kecepatan difusi agar (Asfi, 2023).

Hasil uji standar deviasi untuk diameter zona hambat menunjukkan perbandingan antara konsentrasi larutan uji pada masing masing fraksi ekstrak daun kemangi dengan kontrol positif dan negatif. Hasil dari standar deviasi dapat dilihat pada tabel 4.6, tabel 4.7 dan tabel 4.8. Dari hasil yang didapatkan tersebut, persebaran data dapat dikatakan baik karena antara data diameter zona hambat dengan rata rata diameter zona hambat tidak terlalu jauh. Semakin rendah nilai standar deviasi, semakin dekat data dengan rata – ratanya, sedangkan semakin tinggi nilai standar deviasi, semakin luas rentang variasi data. Tujuan penggunaan standar deviasi yaitu untuk menentukan pendistribusian data dalam suatu sampel dan mengukur seberapa dekat data tersebut dengan nilai rata rata (Ghojali dkk., 2016).

4.7.2 Hasil Uji Statistik

Data yang diperoleh dari pengujian antibakteri terlebih dahulu diuji dengan melakukan Uji Normalitas. Hal ini untuk mengetahui apakah data yang didapat tersebut terdistribusi normal atau tidak. Uji yang dilakukan adalah uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Data tersebut dikatakan normal jika nilai Sig yang dihasilkan $>0,05$. Jika data tersebut normal, maka akan dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*, uji ini dilakukan untuk menguji rata rata atau pengaruh dari perlakuan terhadap zona hambat, kemudian dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Multiple Comparison*, untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara masing masing kelompok uji tersebut.

Tabel 4. 9 Hasil Uji Normalitas data *Shapiro-wilk*

Fraksi	Kosentrasi	Sig
Air	5%	.673
	10%	.964
	20%	.350
	K+	.757
	K-	-
Etil Asetat	5%	.378
	10%	.981
	20%	.798
	K+	.481
	K-	-
N-Heksan	5%	.193
	10%	.132
	20%	.395
	K+	.070
	K-	-

Signifikansi ($p > 0.05$)

Berdasarkan data yang telah dianalisis secara statistik menggunakan *software* SPSS, hasil dari uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk* yang terdapat pada tabel 4.7 menunjukkan nilai *sig* $p > 0,05$, yang berarti data telah terdistribusi normal, sehingga memenuhi asumsi untuk melakukan uji *One-Way* Anova. Berdasarkan uji *one-way Anova* pada tabel 4.8 menunjukkan hasil taraf signifikansi $< 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 dapat diterima, yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna pada rata – rata hasil uji aktivitas antibakteri dan perbedaan daya hambat dari masing masing konsentrasi fraksi fraksi dari ekstrak daun kemangi terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.

Kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc multiple comparison LSD* yang dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan pada diameter zona hambat antara konsentrasi fraksi fraksi dari ekstrak daun kemangi, kontrol negatif dan kontrol positif.

Tabel 4. 10 Hasil Uji *Post-Hoc* LSD dan *One Way* Anova, perbedaan diameter daya hambat antara fraksi air ekstrak daun kemangi

Kelompok	Pembanding	<i>pvalue/sig</i> <i>pvalue ANOVA</i>	
K1 : 5%	10%	,001	
	20%	<,001	
	K.Positif	<,001	
K2 : 10%	K.Negatif	<,001	
	5%	,001	
	20%	,244	
K3 : 20%	K.Positif	<,001	
	K.Negatif	<,001	
	5%	<,001	<,001*
K.Positif	10%	,244	
	K.Positif	<,001	
	K.Negatif	<,001	
K.Negatif	5%	<,001	
	10%	<,001	
	20%	<,001	
	K.Negatif	<,001	
	5%	<,001	
	10%	<,001	
	20%	<,001	
	K.Positif	<,001	

(Nilai *sig* >0,05)

Pada pengujian post hoc LSD fraksi air, untuk konsentrasi 10% didapatkan nilai sig sebesar 0,244 (>0,05), dan pada konsentrasi 20% didapatkan nilai sig sebesar 0,244 (>0,05), hal ini dapat diartikan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan sesuai dengan standar uji LSD (>0,05).

Tabel 4. 11 Hasil Uji *Post-Hoc* LSD dan *One Way* Anova, perbedaan diameter daya hambat antara fraksi etil asetat ekstrak daun kemangi

Kelompok	Pembanding	<i>pvalue/sig</i> <i>pvalue</i> ANOVA	
K1 : 5%	10%	,126	<,001*
	20%	,428	
	K.Positif	<,001	
K2 : 10%	K.Negatif	<,001	
	5%	,126	
	20%	,441	
K3 : 20%	K.Positif	<,001	
	K.Negatif	<,001	
	5%	,428	
K.Positif	10%	,441	
	K.Positif	<,001	
	K.Negatif	<,001	
K.Negatif	5%	<,001	
	10%	<,001	
	20%	<,001	
	K.Negatif	<,001	
	K.Positif	<,001	

(Nilai *sig* >0,05)

Pada pengujian *post hoc* *LSD*, untuk fraksi etil asetat konsentrasi 5%, 10% dan 20% didapatkan nilai *sig* >0,05, hal ini dapat diartikan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan (>0,05).

Tabel 4. 12 Hasil Uji *Post-Hoc* LSD dan *One Way* Anova, perbedaan diameter daya hambat antara fraksi N-Heksan ekstrak daun kemangi

Kelompok	Pembanding	<i>pvalue/sig</i> <i>pvalue</i> ANOVA
K1 : 5%	10%	,003
	20%	<,001
	K.Positif	<,001
	K.Negatif	<,001
K2 : 10%	5%	,003
	20%	<,001
	K.Positif	<,001
	K.Negatif	<,001
K3 : 20%	5%	<,001
	10%	<,001
	K.Positif	<,001
	K.Negatif	<,001
K.Positif	5%	<,001
	10%	<,001
	20%	<,001
	K.Negatif	<,001
K.Negatif	5%	<,001
	10%	<,001
	20%	<,001
	K.Positif	<,001

(Nilai *sig* >0,05)

Pada pengujian *post hoc* LSD, untuk fraksi n-heksan nilai sig yang didapat pada konsentrasi 5%, 10% dan 20%, kontrol positif dan negatif nilai sig yang didapat <0,05, hal ini dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara rata rata diameter zona hambat karena nilai signifikansi yang didapat <0,05.

Perbedaan nilai signifikansi daya hambat antara larutan uji fraksi fraksi ekstrak daun kemangi dengan kontrol negatif dan kontrol positif dapat dilihat dari tanda (*) pada nilai *Mean Difference*. Pada fraksi air konsentrasi 10 % dan 20% tidak terdapat perbedaan yang signifikan sesuai dengan ketentuan uji LSD ($>0,05$). Pada fraksi etil asetat tidak terdapat perbedaan signifikan pada konsentrasi 5%, 10% dan 20%, sedangkan pada kontrol positif dan negatif memiliki perbedaan yang signifikan ($<0,05$). Kemudian pada fraksi n-heksan nilai sig yang didapat $<0,05$, hal ini dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada daya hambat yang terbentuk antara larutan uji fraksi fraksi ekstrak daun kemangi dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%, dengan larutan kontrol negatif dan positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Kelompok konsentrasi dengan nilai $p<0,05$ memiliki perbedaan rata - rata yang bermakna antar konsentrasi, sedangkan kelompok konsentrasi dengan nilai $p>0,05$ tidak memiliki perbedaan rata - rata yang bermakna antar konsentrasi.

BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

1. Fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dari ekstrak daun kemangi pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.
2. Diameter rata – rata zona hambat dari fraksi air terdapat pada konsentrasi 20% sebesar 10,16 mm termasuk kategori kuat, kemudian pada fraksi etil asetat terdapat pada konsentrasi 10% sebesar 12,53 mm dan konsentrasi 20% sebesar 11,24 mm termasuk kategori kuat, dan pada fraksi n-heksan terdapat pada konsentrasi 20% sebesar 12,98 mm termasuk kategori kuat.
3. Dari ketiga fraksi yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri ini, fraksi etil asetat pada memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yang ditandai dengan lebih besarnya rata – rata diameter zona hambat yang dihasilkan dibanding kedua fraksi yang lain.

5.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan uji antibakteri lainnya seperti metode dilusi, dan melakukan teknik ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri fraksi – fraksi ekstrak daun kemangi dalam bentuk sediaan farmasi yang sesuai, seperti *foot spray* atau gel atau salep antiseptik, dan perlu dilakukan uji evaluasi mutu fisik dari sediaan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadita. (2017). Formulasi Losion Ekstrak Etanol 70% Herba Kemangi (*Ocimum Americanum L.*) Menggunakan Asam Stearat Sebagai Emulgator.
- Ainiyyah, V. (2023). Karakteristik gel *mask* dengan Penambahan Bubuk Rumput Laut (*Caulerpa lentillifera*) (*Doctoral dissertation*, Universitas Pendidikan Indonesia).
- Amin, J. E. (2014). Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Basis Sediaan Gel Ekstrak Daun Botto'-Botto' (*Chromolaena odorata L*) Sebagai Obat Luka Terhadap Stabilitas Fisik Sediaan. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Andasari, S. D., Mustofa, C. H., & Arabela, E. O. (2021). Standarisasi Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*). CERATA Jurnal Ilmu Farmasi, 12(1), 47-53.
- Andriani, R. V. (2018). Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* . (*Doctoral dissertation*, STIKES INSAN CENDEKIA MEDIKA JOMBANG).
- Anggraini, W., Nisa, S. C., Ramadhani DA, R., & Ma'arif ZA, B. (2019). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah Blewah (*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical journal of Indonesia*, 5(1), 61-66.
- Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol , Fraksi n- Heksana , Etil Asetat , dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris L .*) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Stikes*, 1(1), 1–6.
- Arsyad, R., Amin, A., & Waris, R. (2023). Teknik pembuatan dan nilai rendeman simplisia dan ekstrak etanol biji bagore(*Caesalpinia crista L.*) asal Polewali Mandar. *Makassar Natural Product Journal*, 1 (3), 138–147.
- Angelina, M., Turnip, M., & Khotimah, S. (2015). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont*, 4(1).
- Ballo, N. D. S., Indriarini, D., & Amat, A. L. S. S. (2021). uji aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Cendana Medical Journal*, 9(1), 83-93.
- Berlian Z, Aini F. Lestari W, (2016). Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum L*) Terhadap Fungi *Fusarium oxysporum* Schelct *Jurnal Penelitian*. Palembang Universitas Negeri Islam Raden Fatah.

- Budiyanto, A. (2015). Potensi Antioksidan, Inhibitor Tirosinase, dan Nilai Toksisitas dari Beberapa Spesies Tanaman Mangrove di Indonesia. Bogor: Institute Pertanian Bogor
- Darmawan, D., & Latifah, P. (2013). Metode penelitian kuantitatif.
- Djaenuddin, Nurashiah dan Amran Muis. (2015). Karakteristik Bakteri Antagonis *Bacillus subtilis* dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati Penyakit Tanaman. Prosiding Seminar Nasional Serealia. 489-494.
- Efendi, M. R. (2019). Skrining Aktivitas Antibakteri Fraksi Kelopak Bunga *Mussaenda frondosa L.* *Journal of Pharmaceutical and sciences*, 2(1), 38-44.
- Endarini, L. H. (2016). Farmakognisi dan Fitokimia. Pusdik SDM Kesehatan Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Jakarta Selatan.
- Fauzana, D.L. (2010). Skripsi Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi Terhadap rendemen Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*). Institut Pertanian Bogor.
- Febriansyah, R., Pratama, A., & Gumilar, J. (2019). Pengaruh konsentrasi NaOH terhadap rendemen, kadar air dan kadar abu gelatin ceker itik (*Anas platyrhynchos Javanica*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*, 14(1), 1-10.
- Febrina, L., Rusli, R., & Muflihah, F. (2015). Optimalisasi Ekstraksi dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (*Ficus Variegata Blume*). *J. Trop. Pharm. Chem*, 3(2), 75-81.
- Fitriah, A., Khairuddin, K., & Puspitasari, D. J. (2018). Pengaruh Penambahan Ekstrak Etanol Sabut Kelapa Muda (*Cocos nucifera Linn*) Dalam Sari Jagung Manis (*Zea mays Var. Saccharata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Shigella dysenteriae*. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 4(3), 324-331.
- Gabriella M.J. Torar, Widya Astuty Lolo, Gayatri C.N. (2020). Uji Aktvitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* 2302-2493
- Gunawan, D. & Mulyani, S., (2010). Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1. Penebar Swadaya. Jakarta
- Gusnadi, D., Taufiq, R., & Baharta, E. (2021). Uji oranoleptik dan daya terima pada produk mousse berbasis tapai singkong sebagai komoditi umkm di Kabupaten Bandung. *Jurnal Inovasi Penelitian*, 1(12), 2883-2888.
- Hasan H, Rahari IE, Ariyani DD, (2016). Pengaruh Ekstrak Kemangi (*Ocimum basilicum L*) Terhadap Daya Tetas Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias*

gariepinus) yang diinfeksi Jamur *Saprolegnia sp.* Jurnal Penelitian Pontianak Universitas Muhammadiyah

- Ihsanto, Muhammad, (2018). Pengaruh Rebusan Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia. Skripsi. Malang Muhammadiyah.
- Irsyaadyah, J. S. (2019). Aktivitas Antibakteri Plum (*Prunus domestica L.*). Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada, 10(2), 363–367.
- Istiawati, A.F. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Kemangi Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Jurusan Farmasi. Surakarta : Stikesnas. Hal. 28-29.
- Ivoryanto, E., Sidarta, B., & Illahi, R. K. (2017). Hubungan tingkat pendidikan formal masyarakat terhadap pengetahuan dalam penggunaan antibiotika oral di Apotek Kecamatan Klojen. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 2(2), 31-36.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2018). Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS).
- Khaira, Evelyn dan Chairul. (2019). Inaktivasi Termal Spora *Bacillus subtilis* Dalam Jus Nanas. Jom FTEKNIK. 6(2): 1-8.
- Khopkar, S.M. (2013). Konsep Dasar Kimia Analitik. Jakarta: UI Press.
- Koirewoa, Y.A., Fatimawali, dan W.I.Wiyono. (2008). Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica L.*). Jurnal FMIPA. 1(1):47-52.
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji fitokimia ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 39-44.
- Larasati, D.A., Apriliana, E. (2016). Efek Potensial Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Sebagai Pemanfaatan *Hand Sanitizer*. Majority, 5(5).
- Leba, M. A. U., (2017). Buku Ajar Ekstraksi dan Real Kromatografi. Penerbit Depublish. Yogyakarta.
- Luntungan, B. M., Wewengkang, D. S., & Rumondor, E. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi *Spons Mycale Vansoesti* Dari Perairan Pulau Mantehage Minahasa Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, 10(2), 889–896. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.34040>
- Mashita, A.R. (2014). Efek Antimikroba Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. 10(2).
- Megawasti, M., Sukmawati, S., & Aminah, A. (2021). Uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun asam jawa (*Tamarindus indica L*) dengan metode

- DPPH (1, 1 Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Wal'afiat Hospital Journal*, 2(2), 95-102.
- Melani, I. R. (2020). Potensi antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara In Vitro (Doctoral dissertation. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Mewar, D., & As' ad, M. F. (2023). Standarisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana (Roxb.) Wedd*) Sebagai Bahan Baku Obat Herbal Terstandar. *Jurnal Penelitian Kesehatan" SUARA FORIKES"(Journal of Health Research" Forikes Voice"*), 14(2), 266-270
- Moeza, M.K. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum Vis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. [Skripsi]. Medan: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
- Murdiyansah, S., Dewa, A.C.R dan I Gde, M. (2020). *Centella asiatica* Activities towards *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Growth. *Jurnal Biologi Tropis*. 20(3): 499-506
- Mutiasari, I.R. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleurotus ostreatus* dengan metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok . (2012).
- Noer, S., Pratiwi, R. D., Gresinta, E., Biologi, P., & Teknik, F. (2018). Penetapan kadar senyawa fitokimia (tanin, saponin dan flavonoid) sebagai kuersetin pada ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia L.*). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19-29.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining fitokimia dari ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris L*) dalam sediaan serbuk. *Jurnal penelitian pendidikan ipa*, 2(1).
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi 80 cakram. *Jurnal Teknologi Hasi Peternakan*, 1, 41–46.
- Nurjannah, I. (2021). Skrining fitokimia dan uji antibakteri ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*citrus hystrix*) dan daun kelor (*moringa oleifera l.*) sebagai zat aktif pada sabun antibakteri (*Doctoral dissertation*, UIN Mataram).
- Nuzantry, Juny Kurnia (2015) "Efektivitas campuran ekstrak *aloe vera* dan *olive oil* dalam formulasi pelembab pada kekeringan, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

- Oktaviana, M.I., Pahalawati, I.N., Kurniasih, N.F., Genatrika, E., (2019). Formulasi Deodoran Spray dari Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) sebagai Antibakteri Penyebab Bau Badan (*Staphylococcus epidermidis*). Pharm. J. Farm. Indones. (Pharmaceutical J. Indonesia. 16, 396. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v16i2.2965>
- Parwata, I. M. O. A., Devanthi, N. M. D., & Dewi, I. G. A. K. S. P. (2022). Kadar Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). Jurnal Kimia, 16(2), 129–133. <https://doi.org/10.24843/jchem.2022.v16.i02.p01>
- Permana, E. I. (2020). Ekstraksi Dengan Metode Maserasi (Tanpa Pemanasan) Untuk Bahan Pestisida Nabati. Kementerian Pertanian-Direktorat Jendral Perkebunan Balai Proteksi Tanaman Perkebunan. Pontianak.
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Jurnal Ilmiah Biosaintropis (BioscienceTropic), 7(2), 57-68.
- Poeloengan M, Praptiwi P. (2012). Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana Linn*). Media Litbang Kesehatan.; 20(2). h. 65-9
- Pratiwi, S.T. (2008) Mikrobiologi Farmasi. Jakarta : Erlangga.
- Putri, E., Anggraeni, Y., Khairina., (2012). Standardisasi Ekstrak Etanol Herbal Pegagan (*Centella asiatica L. Urban*) yang Berasal dari Malang dan Penetapan Kadar Asiatikosida. Jurusan Farmasi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Hal. 2-3.
- Rachmawaty, F. J. et al., (2016). Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia* 1:1-10. Bali: Unibersitas Udayana.
- Rahmayani, U., Pringgenies, D., & Djunaedi, A. (2013). Uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar keong bakau (*Telescopium telescopium*) dengan pelarut yang berbeda terhadap metode DPPH (*diphenyl picril hidrazil*). *Journal of Marine Research*, 2(4), 36-45.
- Rasyid, S. A., Sugireng, Surya, R. A., Sanatang, Rosdarni, & Natalia, W. O. R. (2020). The Antibacterial Activity of Tembelekan Leaf (*Lantana camara L.*) and Kopasanda Leaf (*Chromolaena odorata L.*) Extracts Against *Staphylococcus aureus*. *Infectious Disease Reports*. Vol. 12 No. 1
- Rastina, R., Sudarwanto, M dan Wientarsih, I. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* Jurnal Kedokteran Hewan. 9(2): 185-188.

- Riyani, C. (2016). Efektifitas Metode Pengeringan Pada Pembuatan Simplisia akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia Radix*). *Jurnal Sains Dan Terapan Politeknik Hasnur*, 4(1), 20-26
- Sandy, M., Wardani, T. S., Septiarini, A. D., Kesehatan, F. I., Duta, U., Surakarta, B., Surakarta, K., & Tengah, J. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi n-Heksan , Fraksi Etil Asetat, Fraksi air Daun Pegagan (*centella asiatica* (L .) Urb) Terhadap *escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Media Farmasi Indonesia*, 16(2), 1683–1692.
- Sangkal, A., Ismail, R., & Marasabessy, N. S. (2020). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Bintaro (*Cerbera manghas L.*). 4(1).
- Setyani, W., Setyowati, H., Ayuningtyas, D., (2016). Pemanfaatan Ekstrak Terstandarisasi Daun Som Jawa (*Talinum paniculatum*) (*Jacq. Gaertn*) Dalam Sediaan Krim Anti Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* hlm 44-51 Vol 13.
- Setiawan, M., Mursiti, S., & KusumO, E. (2016). Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus L. Merr*). *Jurnal MIPA*, 39(2), 128–134.
<https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/JM/article/view/5488/4372>
- Simanungkalit, E. R., Duniaji, A. S., & Ekawati, I. G. A. (2020). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidiodes*) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 9(2), 202-210.
- Suhaerah, L. (2012). *Statistika Dasar Untuk Biologi*. Bandung Fakultas Keguruan dan ilmu pendidikan universitas Pasundan Bandung .
 Suprihatiningrum, J. (2013).
- Sulaiman, A. Y., Pudji A., dan Shita D. P. S. (2017). Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*). *Indonesian Journal for Health Sciences*. 1 (2) : 1-6.
- Surahmaida, S., & Umarudin, U. (2019). Studi fitokimia ekstrak daun kemangi dan daun kumis kucing menggunakan pelarut metanol. *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 3(1), 1-6.
- Syamsul, M. A. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi Dalam Bentuk Sediaan Gel. Skripsi. Jurusan Farmasi. Makassar : UIN Alauddin Makassar. Hal. 24-26.
- Tivani, I., Amananti, W., & Putri, A. R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri *Handwash* Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora L*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 7(1), 86-91.
- Utami, C. R., Rahardhian, M. R. R., & Sulistyarini, I. (2017). Aktivitas Antibakteri Pigmen Karotenoid Khamir *Phaffia Rhodozyma* Terhadap

Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis* ATCC 6231 Secara In Vitro. Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta, 1(1), 70–75.

Winangsih & Prihastanti, E.P.S. (2013). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum L.*). Buletin Anatomi dan Fisiologi, 21(1), 19-25.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1

SURAT IZIN PENELITIAN DI LABORATORIUM



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

Samarinda, 04 Desember 2024

Nomor : 18S/STIKDS-Far/XI/2024
Perihal : Surat Izin Melaksanakan Penelitian

Dengan Hormat,

Yang bertandatangan di bawah ini, Wakil Ketua I dan Ketua Program Studi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda, menyatakan bahwa mahasiswa,

Nama : Maria Sisilia Wangge
NIM : 211148201183
Program Studi/Institusi : Farmasi / STIKES Dirgahayu Samarinda
Judul Penelitian : "Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi – Fraksi dari Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*"
Tempat Penelitian : Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Fitokimia
Waktu Penelitian : Desember 2024 - Maret 2025

Telah memenuhi kaidah akademik dan diizinkan untuk melakukan penelitian skripsi.



Ns. Gracia Herni Pertiwi, S.Kep., M.Kep., Ph.D.Ns.
NIK. 0778.A4.08



apt. Lijanti Geografi, M.Sc.
NIK. 0419.A4.25

LAMPIRAN 2
CERTIFICATE OF ANALYSIS BAKTERI *Bacillus subtilis*



ThermoFisher
SCIENTIFIC
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
Lanesh, KS 66215
800.255.6730
800.447.3761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis - Certified Reference Material **thermo**scientific

Thermo Scientific™ Trademark™

Product Number	R4601221
Product Name	B. spizizenii ATCC 6633 PK/5
Lot Number	157507
Usage Decision	Accepted (OK)
Expiration Date	2026-02-12

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. The results were derived from a representative sample of the batch and were obtained at the time of release. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use, hazard/safety requirements, and storage conditions.

Product Char Results

Purity	Demonstrates pure growth on applicable media
Viability	Recovered at acceptable level within test period
Passage	3 (Current preserved state)

Microbiological Testing	Results	Specification
>85% Identification on Vitek 2C BCL	100	85 - 100
>95% Identification on MicroSEQ	Pass	95 - 100
Microscopic Features		



These tests are performed in accordance with ISO 17025 guidelines. Thermo Fisher Scientific has determined each loop of this reference material to be sufficiently homogeneous for its intended use. Individual products are traceable to a recognized culture collection. Although the Vitek(TM) panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

LAMPIRAN 3

SURAT DETERMINASI



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN FAKULTAS KEHUTANAN
LABORATORIUM EKOLOGI DAN KONSERVASI BIODIVERSITAS HUTAN TROPIS
Alamat: kampus Unmul Gunung Kelua, Jl. Panajam Gd. B11 Lt.1 Samarinda 75123
Telp./Fax (0541) 7273726, Email: lab.ekobio@fahutan.unmul.ac.id

Samarinda, 21 November 2024

Nomor : 349/UN17.4.08/LL/2024
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk/Ibu/Sdr(i). Maria Sisilia Wange (211148201183)

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

di-
Tempat

Dengan Hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Phylum : Streptophyta
Class : Equisetopsida
Order : Lamiales
Family : Lamiaceae
Species : *Ocimum tenuiflorum* L.
Synonyms : *Geniosporum tenuiflorum* (L.) Merr., *Lumnitzera tenuiflora* (L.) Spreng., *Moschosma tenuiflorum* (L.) Heynh., *Ocimum flexuosum* Blanco., *Ocimum hirsutum* Benth., *Ocimum inodorum* Burm.f., *Ocimum sanctum* L., *Ocimum sanctum* var. *cubensis* Gomes.,

Common name : Kemangi
Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Tembusan:
Arsip

Prof. Dr. Ir. Paulus Matius, M.Sc
NIP.195504111984031001

LAMPIRAN 4 ALUR PENELITIAN

1. Tahap Persiapan

Pengumpulan dan pemilihan bahan simplisia



Proses pemisahan antara batang dan daun kemangi



Proses pencucian daun kemangi dibawah air mengalir



Simplisia daun kemangi yang sudah dikeringkan



2. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kemangi







3. Pembuatan Fraksi



4. Pengujian Antibakteri



LAMPIRAN 5
HASIL PENGAMATAN UJI FITOKIMIA

Uji	Gambar	Hasil
Alkaloid	Menggunakan reagen wagner, dan HCl 	+ Terbentuk endapan berwarna merah kecoklatan
Saponin	Menggunakan air panas, dan HCl 2N 	+ ditandai dengan terbentuknya buih, dan pada penambahan HCl 2N, buih tidak hilang
Tanin	Menggunakan FeCl ₃ 	+ ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman
Flavonoid	Menggunakan etanol, dan FeCl ₃ 	+ terjadi perubahan warna menjadi hijau agak kehitaman

LAMPIRAN 6
HASIL PENGAMATAN DAN PERHITUNGAN STANDARISASI SIMPLISIA
DAN RENDEMEN

Uji	Hasil
Organoleptis	Bentuk : serbuk Bau : Khas bau kemangi Warna : hijau tua
Penetapan kadar abu total	Rumus penetapan kadar abu total : $\frac{w_2 - w_0}{w_1} \times 100\%$ w_0 = bobot krus kosong w_1 = bobot sampel awal w_2 = bobot krus + simplisia setelah pemijaran Replikasi 1 $\frac{w_2 - w_0}{w_1} \times 100\%$ $\frac{21,848 - 21,608}{2} \times 100\%$ = 12% Replikasi 2 $\frac{27,622 - 27,361}{2} \times 100\%$ = 13% Replikasi 3 $\frac{24,680 - 24,432}{2} \times 100\%$ = 12% Standar nilai kadar abu total adalah $\leq 16,6\%$ (Depkes RI, 2017)
Penetapan kadar air	Diketahui : a: 45,41 gram b: 0,5 gram c: 45,84 gram Rumus penetapan kadar air $\frac{b - (c - a)}{b} \times 100\%$ $= \frac{0,5 - (45,84 - 45,41)}{0,5} \times 100\%$ $= \frac{0,5 - 0,43}{0,5} \times 100\%$ = 14%
Penetapan bobot jenis	Piknometer kosong : 21,54 Piknometer + air : 30,799 Piknometer + ekstrak : 29,952 Bobot jenis : $\frac{29,952 - 21,54}{30,799 - 21,54} = \frac{8,412}{9,259} = 0,908$ gram

<p>Bebas pelarut etanol</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>No</th> <th>Golongan Senyawa</th> <th>Perakui</th> <th>Literatur</th> <th>Hasil Pengamatan</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Bebas Pelarut Etanol</td> <td>Asam asetat glisiral Asam sulfat pekat Asam sulfanilat NaOH HCl Na2S2</td> <td>Tidak ada bau etanol yang khas</td> <td>Tidak ada bau etanol yang khas, hanya terdapat bau ekstrak</td> </tr> </tbody> </table>	No	Golongan Senyawa	Perakui	Literatur	Hasil Pengamatan	1	Bebas Pelarut Etanol	Asam asetat glisiral Asam sulfat pekat Asam sulfanilat NaOH HCl Na2S2	Tidak ada bau etanol yang khas	Tidak ada bau etanol yang khas, hanya terdapat bau ekstrak
No	Golongan Senyawa	Perakui	Literatur	Hasil Pengamatan							
1	Bebas Pelarut Etanol	Asam asetat glisiral Asam sulfat pekat Asam sulfanilat NaOH HCl Na2S2	Tidak ada bau etanol yang khas	Tidak ada bau etanol yang khas, hanya terdapat bau ekstrak							
<p>Perhitungan rendemen ekstrak</p>	$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$ $= \frac{39,16}{300} \times 100\%$ $= 13,05\%$										
<p>Perhitungan rendemen fraksi</p>	$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$ <p>= Fraksi air</p> $\frac{97,13}{3} \times 100\% = 32,37 \text{ gr}$ <p>= Fraksi etil asetat</p> $\frac{97,81}{3} \times 100\% = 32,60 \text{ gr}$ <p>Fraksi n-heksan</p> $\frac{74,98}{3} \times 100\% = 24,99 \text{ gr}$										

LAMPIRAN 7
STANDARISASI EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI

Penetapan kadar abu total



Uji bebas pelarut etanol



Penetapan kadar air



Penetapan bobot jenis



LAMPIRAN 8 HASIL UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Uji aktivitas antibakteri fraksi air Uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat



Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan



LAMPIRAN 9
PERHITUNGAN DIAMETER ZONA HAMBAT

1. Fraksi Air

Pengulangan 1	Pengulangan 2
<p>5% Diketahui : DV : 13,47 mm DH : 12,40 mm DC : 6 mm $= \frac{(13,47-6)+(12,40-6)}{2}$ $= \frac{7,47+6,4}{2} = \frac{13,87}{2} = 6,9 \text{ mm}$</p>	<p>5% Diketahui : DV : 13,04 mm DH : 11,70 mm DC : 6 mm $= \frac{(13,04-6)+(11,70-6)}{2}$ $= \frac{7,04+5,7}{2} = \frac{12,74}{2} = 6,37 \text{ mm}$</p>
<p>10% Diketahui : DV : 18,92 mm DH : 15,65 mm DC : 6 mm $= \frac{(18,92-6)+(15,65-6)}{2}$ $= \frac{12,92+9,65}{2} = \frac{22,57}{2} = 11,29 \text{ mm}$</p>	<p>10% Diketahui : DV : 15,28 mm DH : 14,51 mm DC : 6 mm $= \frac{(15,28-6)+(14,51-6)}{2}$ $= \frac{9,28+8,51}{2} = \frac{17,79}{2} = 8,89 \text{ mm}$</p>
<p>20% Diketahui : DV : 17,75 mm DH : 16,73 mm DC : 6 mm $= \frac{(17,75-6)+(16,73-6)}{2}$ $= \frac{11,75+10,73}{2} = \frac{22,48}{2} = 11,24 \text{ mm}$</p>	<p>20% Diketahui : DV : 19,21 mm DH : 17,14 mm DC : 6 mm $= \frac{(19,21-6)+(17,14-6)}{2}$ $= \frac{13,21+11,14}{2} = \frac{24,35}{2} = 12,17 \text{ mm}$</p>
<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 27,81 mm DH : 26,13 mm DC : 6 mm $= \frac{(27,81-6)+(26,13-6)}{2}$ $= \frac{21,81+20,13}{2} = \frac{41,94}{2} = 20,97 \text{ mm}$</p>	<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 28,10 mm DH : 27,96 mm DC : 6 mm $= \frac{(28,10-6)+(27,96-6)}{2}$ $= \frac{22,1+21,96}{2} = \frac{44,06}{2} = 22,03 \text{ mm}$</p>

Pengulangan 3**Pengulangan 4**

<p>5% Diketahui : DV : 11,13 mm DH : 11,52 mm DC : 6 mm $= \frac{(11,13-6)+(11,52-6)}{2}$ $= \frac{5,13+5,52}{2} = \frac{10,65}{2} = 5,32 \text{ mm}$</p>	<p>5% Diketahui : DV : 10,01 mm DH : 10,81 mm DC : 6 mm $= \frac{(10,01-6)+(10,81-6)}{2}$ $= \frac{4,01+4,81}{2} = \frac{8,82}{2} = 4,41 \text{ mm}$</p>
<p>10% Diketahui : DV : 14,43 mm DH : 13,72 mm DC : 6 mm $= \frac{(14,43-6)+(13,72-6)}{2}$ $= \frac{8,43+7,72}{2} = \frac{16,15}{2} = 8,07 \text{ mm}$</p>	<p>10% Diketahui : DV : 16,53 mm DH : 15,03 mm DC : 6 mm $= \frac{(16,53-6)+(15,03-6)}{2}$ $= \frac{10,53+9,03}{2} = \frac{19,56}{2} = 9,78 \text{ mm}$</p>
<p>20% Diketahui : DV : 20,35 mm DH : 16,74 mm DC : 6 mm $= \frac{(20,35-6)+(16,74-6)}{2}$ $= \frac{14,35+10,74}{2} = \frac{25,09}{2} = 12,54 \text{ mm}$</p>	<p>20% Diketahui : DV : 15,12 mm DH : 13,91 mm DC : 6 mm $= \frac{(15,12-6)+(13,91-6)}{2}$ $= \frac{9,12+7,91}{2} = \frac{17,03}{2} = 8,51 \text{ mm}$</p>
<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 33,50 mm DH : 22,58 mm DC : 6 mm $= \frac{(33,50-6)+(22,58-6)}{2}$ $= \frac{27,5+16,58}{2} = \frac{44,08}{2} = 22,04 \text{ mm}$</p>	<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 29,46 mm DH : 26,01 mm DC : 6 mm $= \frac{(29,46-6)+(26,01-6)}{2}$ $= \frac{23,46+20,01}{2} = \frac{43,48}{2} = 21,74 \text{ mm}$</p>

Pengulangan 5

<p>5% Diketahui : DV : 11,20 mm DH : 10,47 mm DC : 6 mm $= \frac{(11,20-6)+(10,47-6)}{2}$ $= \frac{5,2+4,47}{2} = \frac{9,67}{2} = 4,83 \text{ mm}$</p>	<p>10% Diketahui : DV : 13,91 mm DH : 12,43 mm DC : 6 mm $= \frac{(13,91-6)+(12,43-6)}{2}$ $= \frac{7,91+6,43}{2} = \frac{14,34}{2} = 8,07 \text{ mm}$</p>
<p>20% Diketahui : DV : 11,36 mm DH : 13,38 mm DC : 6 mm $= \frac{(11,36-6)+(13,38-6)}{2}$ $= \frac{5,36 + 7,38}{2} = \frac{12,74}{2} = 6,37 \text{ mm}$</p>	<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 28,55 mm DH : 28,83 mm DC : 6 mm $= \frac{(28,55-6)+(28,83-6)}{2}$ $= \frac{22,55+22,83}{2} = \frac{45,38}{2} = 22,69 \text{ mm}$</p>

2. Fraksi Etil Asetat

Pengulangan 1

Pengulangan 2

<p>5% Diketahui : DV : 11,63 mm DH : 10,88 mm DC : 6 mm $= \frac{(11,63-6)+(10,88-6)}{2}$ $= \frac{5,63+4,88}{2} = \frac{10,51}{2} = 5,25 \text{ mm}$</p>	<p>5% Diketahui : DV : 14,92 mm DH : 16,57 mm DC : 6 mm $= \frac{(14,92-6)+(16,57-6)}{2}$ $= \frac{8,92+10,57}{2} = \frac{19,49}{2} = 9,74 \text{ mm}$</p>
<p>10% Diketahui : DV : 15,12 mm DH : 14,79 mm DC : 6 mm $= \frac{(15,12-6)+(14,79-6)}{2}$ $= \frac{9,12+8,79}{2} = \frac{17,91}{2} = 8,95 \text{ mm}$</p>	<p>10% Diketahui : DV : 21,02 mm DH : 19,12 mm DC : 6 mm $= \frac{(21,02-6)+(19,12-6)}{2}$ $= \frac{15,02+13,12}{2} = \frac{28,14}{2} = 14,07 \text{ mm}$</p>
<p>20% Diketahui :</p>	<p>20% Diketahui :</p>

DV : 13,36 mm DH : 14,04 mm DC : 6 mm $= \frac{(13,36-6)+(14,04-6)}{2}$ $= \frac{7,36+8,04}{2} = \frac{15,4}{2} = 7,7 \text{ mm}$	DV : 20,44 mm DH : 20,63 mm DC : 6 mm $= \frac{(20,44-6)+(20,63-6)}{2}$ $= \frac{14,44+14,63}{2} = \frac{29,07}{2} = 14,53 \text{ mm}$
Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 27,82 mm DH : 27,37 mm DC : 6 mm $= \frac{(27,82-6)+(27,37-6)}{2}$ $= \frac{21,82+21,37}{2} = \frac{43,19}{2} = 21,59 \text{ mm}$	Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 26,13 mm DH : 27,72 mm DC : 6 mm $= \frac{(26,13-6)+(27,72-6)}{2}$ $= \frac{20,13+21,72}{2} = \frac{41,85}{2} = 20,92 \text{ mm}$

Pengulangan 3

Pengulangan 4

5% Diketahui : DV : 17,18 mm DH : 13,88 mm DC : 6 mm $= \frac{(17,18-6)+(13,88-6)}{2}$ $= \frac{11,18+7,88}{2} = \frac{19,06}{2} = 9,53 \text{ mm}$	5% Diketahui : DV : 23,03 mm DH : 22,71 mm DC : 6 mm $= \frac{(23,03-6)+(22,71-6)}{2}$ $= \frac{17,03+16,71}{2} = \frac{33,74}{2} = 16,87 \text{ mm}$
10% Diketahui : DV : 20,08 mm DH : 17,52 mm DC : 6 mm $= \frac{(20,08-6)+(17,52-6)}{2}$ $= \frac{14,08+11,52}{2} = \frac{25,6}{2} = 12,8 \text{ mm}$	10% Diketahui : DV : 22,43 mm DH : 20,99 mm DC : 6 mm $= \frac{(22,43-6)+(20,99-6)}{2}$ $= \frac{16,43+14,99}{2} = \frac{31,42}{2} = 15,71 \text{ mm}$
20% Diketahui : DV : 17,50 mm DH : 18,20 mm DC : 6 mm $= \frac{(17,50-6)+(18,20-6)}{2}$ $= \frac{11,5+12,2}{2} = \frac{23,7}{2} = 11,85 \text{ mm}$	20% Diketahui : DV : 18,11 mm DH : 19,92 mm DC : 6 mm $= \frac{(18,11-6)+(19,92-6)}{2}$ $= \frac{12,11+13,92}{2} = \frac{26,03}{2} = 13,01 \text{ mm}$

<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 25,94 mm DH : 27,16 mm DC : 6 mm $= \frac{(25,94-6)+(27,16-6)}{2}$ $= \frac{19,94+21,16}{2} = \frac{41,1}{2} = 20,55 \text{ mm}$</p>	<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 29,49 mm DH : 25,96 mm DC : 6 mm $= \frac{(29,49-6)+(25,96-6)}{2}$ $= \frac{23,49+19,96}{2} = \frac{43,45}{2} = 21,72 \text{ mm}$</p>
---	--

Pengulangan 5

<p>5% Diketahui : DV : 13,66 mm DH : 14,83 mm DC : 6 mm $= \frac{(13,66-6)+(14,83-6)}{2}$ $= \frac{7,66+8,83}{2} = \frac{16,49}{2} = 8,24 \text{ mm}$</p>	<p>10% Diketahui : DV : 16,35 mm DH : 17,94 mm DC : 6 mm $= \frac{(16,35-6)+(17,94-6)}{2}$ $= \frac{10,35+11,94}{2} = \frac{22,29}{2} = 11,14 \text{ mm}$</p>
<p>20% Diketahui : DV : 13,65 mm DH : 16,66 mm DC : 6 mm $= \frac{(13,65-6)+(16,66-6)}{2}$ $= \frac{7,65 + 10,66}{2} = \frac{18,31}{2} = 9,15 \text{ mm}$</p>	<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 28,45 mm DH : 28,14 mm DC : 6 mm $= \frac{(28,45-6)+(28,14-6)}{2}$ $= \frac{22,45+22,14}{2} = \frac{44,59}{2} = 22,29 \text{ mm}$</p>

3. Fraksi N-Heksan

Pengulangan 1

Pengulangan 2

<p>5% Diketahui : DV : 12,72 mm DH : 11,33 mm DC : 6 mm $= \frac{(12,72-6)+(11,33-6)}{2}$ $= \frac{6,72+5,33}{2} = \frac{12,05}{2} = 6,02 \text{ mm}$</p>	<p>5% Diketahui : DV : 13,33 mm DH : 13,83 mm DC : 6 mm $= \frac{(13,33-6)+(13,83-6)}{2}$ $= \frac{7,33 + 7,83}{2} = \frac{15,16}{2} = 7,58 \text{ mm}$</p>
--	--

<p>10% Diketahui : DV : 15,21 mm DH : 12,16 mm DC : 6 mm $= \frac{(15,21-6)+(12,16-6)}{2}$ $= \frac{9,21+6,16}{2} = \frac{15,37}{2} = 7,68 \text{ mm}$</p>	<p>10% Diketahui : DV : 16,05 mm DH : 17,09 mm DC : 6 mm $= \frac{(16,05-6)+(17,09-6)}{2}$ $= \frac{10,05+11,09}{2} = \frac{21,14}{2} = 10,57 \text{ mm}$</p>
<p>20% Diketahui : DV : 17,52 mm DH : 17,79 mm DC : 6 mm $= \frac{(17,52-6)+(17,79-6)}{2}$ $= \frac{11,52+11,79}{2} = \frac{23,31}{2} = 11,65 \text{ mm}$</p>	<p>20% Diketahui : DV : 19,80 mm DH : 20,41 mm DC : 6 mm $= \frac{(19,80-6)+(20,41-6)}{2}$ $= \frac{13,8+14,41}{2} = \frac{28,21}{2} = 14,10 \text{ mm}$</p>
<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 26,56 mm DH : 25,06 mm DC : 6 mm $= \frac{(26,56-6)+(25,06-6)}{2}$ $= \frac{20,56+19,06}{2} = \frac{39,62}{2} = 19,81 \text{ mm}$</p>	<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 27,92 mm DH : 28,79 mm DC : 6 mm $= \frac{(27,92-6)+(28,79-6)}{2}$ $= \frac{21,92+22,79}{2} = \frac{44,71}{2} = 22,35 \text{ mm}$</p>

Pengulangan 3

Pengulangan 4

<p>5% Diketahui : DV : 11,08 mm DH : 12,41 mm DC : 6 mm $= \frac{(11,08-6)+(12,41-6)}{2}$ $= \frac{5,08+6,41}{2} = \frac{11,49}{2} = 5,74 \text{ mm}$</p>	<p>5% Diketahui : DV : 11,27 mm DH : 15,89 mm DC : 6 mm $= \frac{(11,27-6)+(15,89-6)}{2}$ $= \frac{5,27+9,89}{2} = \frac{15,16}{2} = 7,58 \text{ mm}$</p>
<p>10% Diketahui : DV : 14,37 mm DH : 12,51 mm DC : 6 mm</p>	<p>10% Diketahui : DV : 17,63 mm DH : 16,35 mm DC : 6 mm</p>

$= \frac{(14,37-6)+(12,51-6)}{2}$ $= \frac{8,37+6,51}{2} = \frac{14,88}{2} = 7,44 \text{ mm}$	$= \frac{(17,63-6)+(16,35-6)}{2}$ $= \frac{11,63+10,35}{2} = \frac{21,98}{2} = 10,99 \text{ mm}$
<p>20% Diketahui : DV : 19,89 mm DH : 20,50 mm DC : 6 mm</p> $= \frac{(19,89-6)+(20,50-6)}{2}$ $= \frac{13,89+14,5}{2} = \frac{28,39}{2} = 14,19 \text{ mm}$	<p>20% Diketahui : DV : 19,81 mm DH : 17,78 mm DC : 6 mm</p> $= \frac{(19,81-6)+(17,78-6)}{2}$ $= \frac{13,81+11,78}{2} = \frac{25,59}{2} = 12,79 \text{ mm}$
<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 28,04 mm DH : 31,20 mm DC : 6 mm</p> $= \frac{(28,04-6)+(31,20-6)}{2}$ $= \frac{22,04+25,2}{2} = \frac{47,24}{2} = 23,62 \text{ mm}$	<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 28,37 mm DH : 30,02 mm DC : 6 mm</p> $= \frac{(28,37-6)+(30,02-6)}{2}$ $= \frac{22,37+24,02}{2} = \frac{46,39}{2} = 23,19 \text{ mm}$

Pengulangan 5

<p>5% Diketahui : DV : 12,43 mm DH : 13,58 mm DC : 6 mm</p> $= \frac{(12,43-6)+(13,58-6)}{2}$ $= \frac{6,43+7,58}{2} = \frac{14,01}{2} = 7,005 \text{ mm}$	<p>10% Diketahui : DV : 16,66 mm DH : 15,71 mm DC : 6 mm</p> $= \frac{(16,66-6)+(15,71-6)}{2}$ $= \frac{10,66+9,71}{2} = \frac{20,37}{2} = 10,185 \text{ mm}$
<p>20% Diketahui : DV : 18,37 mm DH : 18,01 mm DC : 6 mm</p> $= \frac{(18,37-6)+(18,01-6)}{2}$ $= \frac{12,37+12,01}{2} = \frac{24,38}{2} = 12,19 \text{ mm}$	<p>Kontrol Positif (Eritromisin) Diketahui : DV : 29,01 mm DH : 29,84 mm DC : 6 mm</p> $= \frac{(29,01-6)+(29,84-6)}{2}$ $= \frac{23,01+23,84}{2} = \frac{46,85}{2} = 23,425 \text{ mm}$

LAMPIRAN 10 HASIL UJI STATISTIK

1. Hasil Uji Normalitas Fraksi Air

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Dayahambat	5%	,193	5	,200*	,941	5	,673
	10%	,138	5	,200*	,986	5	,964
	20%	,258	5	,200*	,889	5	,350
	K.Positif	,207	5	,200*	,953	5	,757
	K.Negatif	.	5	.	.	5	.

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Fraksi Etil Asetat

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter_zona_hambat	5%	,317	5	,111	,894	5	,378
	10%	,141	5	,200*	,990	5	,981
	20%	,185	5	,200*	,959	5	,798
	k.positif	,286	5	,200*	,912	5	,481
	k.negatif	.	5	.	.	5	.

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Fraksi N-Heksan

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter_zona_hambat	5%	,218	5	,200*	,850	5	,193
	10%	,285	5	,200*	,827	5	,132
	20%	,237	5	,200*	,897	5	,395
	K.Positif	,275	5	,200*	,792	5	,070
	K.Negatif	.	5	.	.	5	.

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil Uji *One-Way* ANOVA
Fraksi Air

ANOVA

Dayahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1299,268	4	324,817	147,835	<,001
Within Groups	43,943	20	2,197		
Total	1343,211	24			

Fraksi Etil Asetat

ANOVA

Diameter_zona_hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1148,562	4	287,140	42,999	<,001
Within Groups	133,557	20	6,678		
Total	1282,119	24			

Fraksi N-Heksan

ANOVA

Diameter_zona_hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1373,737	4	343,434	234,481	<,001
Within Groups	29,293	20	1,465		
Total	1403,031	24			

3. Hasil Uji *Post-Hoc* LSD Fraksi Air

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Dayahambat
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5%	10%	-3,47400*	,93748	,001	-5,4295	-1,5185
	20%	-4,60000*	,93748	<,001	-6,5555	-2,6445
	K.Positif	-16,32800*	,93748	<,001	-18,2835	-14,3725
	K.Negatif	5,56600*	,93748	<,001	3,6105	7,5215
10%	5%	3,47400*	,93748	,001	1,5185	5,4295
	20%	-1,12600	,93748	,244	-3,0815	,8295
	K.Positif	-12,85400*	,93748	<,001	-14,8095	-10,8985
	K.Negatif	9,04000*	,93748	<,001	7,0845	10,9955
20%	5%	4,60000*	,93748	<,001	2,6445	6,5555
	10%	1,12600	,93748	,244	-,8295	3,0815
	K.Positif	-11,72800*	,93748	<,001	-13,6835	-9,7725
	K.Negatif	10,16600*	,93748	<,001	8,2105	12,1215
K.Positif	5%	16,32800*	,93748	<,001	14,3725	18,2835
	10%	12,85400*	,93748	<,001	10,8985	14,8095
	20%	11,72800*	,93748	<,001	9,7725	13,6835
	K.Negatif	21,89400*	,93748	<,001	19,9385	23,8495
K.Negatif	5%	-5,56600*	,93748	<,001	-7,5215	-3,6105
	10%	-9,04000*	,93748	<,001	-10,9955	-7,0845
	20%	-10,16600*	,93748	<,001	-12,1215	-8,2105
	K.Positif	-21,89400*	,93748	<,001	-23,8495	-19,9385

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

Fraksi Etil Asetat

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter_zona_hambat
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5%	10%	-2,60800	1,63436	,126	-6,0172	,8012
	20%	-1,32200	1,63436	,428	-4,7312	2,0872
	k.positif	-11,32800*	1,63436	<,001	-14,7372	-7,9188
	k.negatif	9,92600*	1,63436	<,001	6,5168	13,3352
10%	5%	2,60800	1,63436	,126	-,8012	6,0172
	20%	1,28600	1,63436	,441	-2,1232	4,6952
	k.positif	-8,72000*	1,63436	<,001	-12,1292	-5,3108
	k.negatif	12,53400*	1,63436	<,001	9,1248	15,9432
20%	5%	1,32200	1,63436	,428	-2,0872	4,7312
	10%	-1,28600	1,63436	,441	-4,6952	2,1232
	k.positif	-10,00600*	1,63436	<,001	-13,4152	-6,5968
	k.negatif	11,24800*	1,63436	<,001	7,6388	14,8572
k.positif	5%	11,32800*	1,63436	<,001	7,9188	14,7372
	10%	8,72000*	1,63436	<,001	5,3108	12,1292
	20%	10,00600*	1,63436	<,001	6,5968	13,4152
	k.negatif	21,25400*	1,63436	<,001	17,8448	24,6632
k.negatif	5%	-9,92600*	1,63436	<,001	-13,3352	-6,5168
	10%	-12,53400*	1,63436	<,001	-15,9432	-9,1248
	20%	-11,24800*	1,63436	<,001	-14,6572	-7,8388
	k.positif	-21,25400*	1,63436	<,001	-24,6632	-17,8448

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

Fraksi N-Heksan

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter_zona_hambat

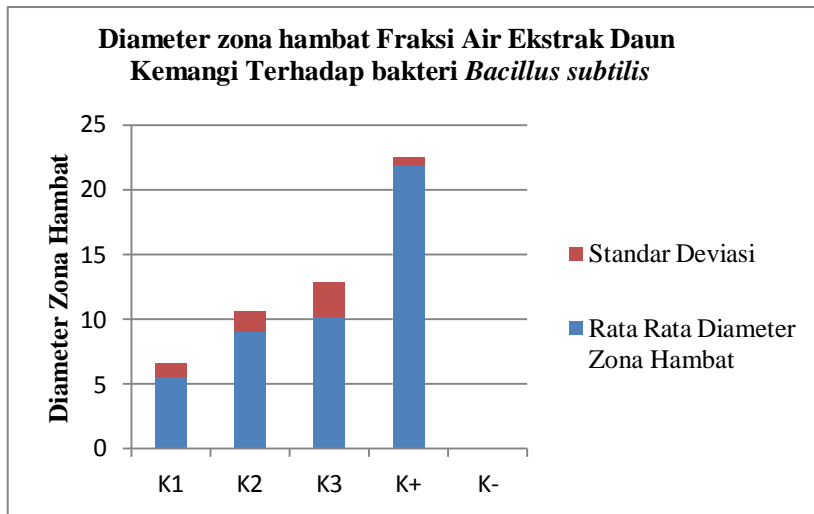
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5%	10%	-2,57800*	,76542	,003	-4,1746	-,9814
	20%	-6,19000*	,76542	<,001	-7,7866	-4,5934
	K.Positif	-15,68400*	,76542	<,001	-17,2806	-14,0874
	K.Negatif	6,79400*	,76542	<,001	5,1974	8,3906
10%	5%	2,57800*	,76542	,003	,9814	4,1746
	20%	-3,61200*	,76542	<,001	-5,2086	-2,0154
	K.Positif	-13,10600*	,76542	<,001	-14,7026	-11,5094
	K.Negatif	9,37200*	,76542	<,001	7,7754	10,9686
20%	5%	6,19000*	,76542	<,001	4,5934	7,7866
	10%	3,61200*	,76542	<,001	2,0154	5,2086
	K.Positif	-9,49400*	,76542	<,001	-11,0906	-7,8974
	K.Negatif	12,98400*	,76542	<,001	11,3874	14,5806
K.Positif	5%	15,68400*	,76542	<,001	14,0874	17,2806
	10%	13,10600*	,76542	<,001	11,5094	14,7026
	20%	9,49400*	,76542	<,001	7,8974	11,0906
	K.Negatif	22,47800*	,76542	<,001	20,8814	24,0746
K.Negatif	5%	-6,79400*	,76542	<,001	-8,3906	-5,1974
	10%	-9,37200*	,76542	<,001	-10,9686	-7,7754
	20%	-12,98400*	,76542	<,001	-14,5806	-11,3874
	K.Positif	-22,47800*	,76542	<,001	-24,0746	-20,8814

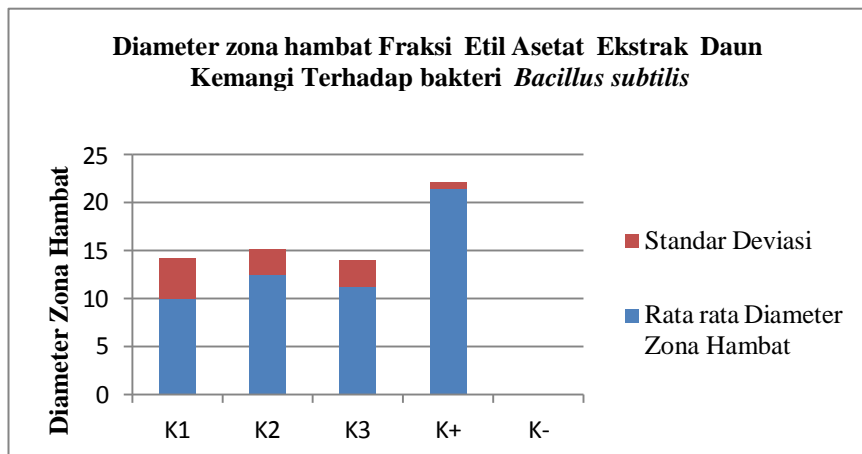
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN 11
DIAGRAM RATA – RATA DIAMETER ZONA HAMBAT

1. Fraksi Air



2. Fraksi Etil Asetat



3. Fraksi N-Heksan

