

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L)

Tanaman kemangi (*Ocimum citriodorum* Vis.) berasal dari Asia Barat dan tersebar secara alami ke Amerika, Afrika, dan Asia. Tanaman ini sudah dibudidayakan di Mesir sejak 3000 tahun yang lalu serta cara penanamannya dikenal dari Timur Tengah sampai Yunani, Italia, Eropa, dan Asia.¹⁶



Gambar 1. Daun Kemangi

2.1.1 Klasifikasi

Secara ilmiah, Daun kemangi atau dengan nama latin *Ocimum basilicum* L diklasifikasikan sebagai berikut: ⁽¹⁶⁾

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Superdivisio</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Divisio</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Subkelas</i>	: <i>Asteridae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Lamiales</i>
<i>Familia</i>	: <i>Labiatae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Ocimum</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Ocimum basilicum</i> L

2.1.2 Morfologi daun Kemangi (*Ocimum basillicum L*)

Tanaman ini termasuk dalam famili Lamiaciae dan mempunyai ciri-ciri batang kayu jenis semak dengan tinggi 30-150 cm, batang berbentuk segi empat, permukaan batang beralur dan memiliki bulu, bercabang, serta berwarna hijau, mempunyai bunga berwarna putih dan aroma dari tanaman ini sangatlah khas. ⁽¹⁷⁾

2.1.3 Manfaat daun Kemangi (*Ocimum basillicum L*)

Hasil penelitian dari Khidirman pada tahun 2017 menyebutkan bahwa daun kemangi mempunyai kandungan minyak atsiri yang didalamnya terdapat banyak senyawa seperti flavoid, alkaloid, saponin dan tannin. senyawa ini berfungsi sebagai antipiretik, antifungi, analgesic, antiseptic, antibakteri, hepatoprotektor, imunomodulator, antirepellent dan antiiekspektoran. ^{(18),(19)}

Tanaman kemangi (*Ocimum citriodorum Vis.*) memiliki kandungan kimia pada bunga, daun, ataupun batangnya. Kandungan kimia tertinggi dari tanaman kemangi (*Ocimum citriodorum Vis.*) terdapat pada daunnya. ⁽²⁰⁾ Daun kemangi (*Ocimum citriodorum Vis.*) mengandung flavonoid, saponin, tannin, dan minyak atsiri yang mengandung eugenol sebagai komponen utama. ⁽²¹⁾

Flavonoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar, seperti etanol, butanol, serta aseton. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri. Flavonoid bekerja dengan merusak membran sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel. ⁽²²⁾

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. ⁽²³⁾

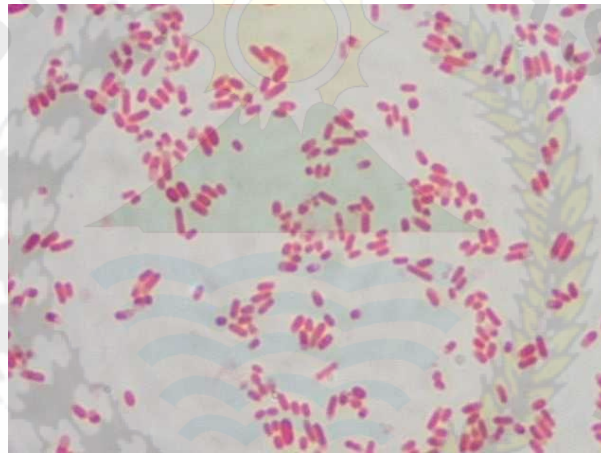
Sementara itu, tannin dapat menyebabkan kerusakan dinding sel dengan cara mengerutkan dinding sel, sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel itu sendiri, akibatnya pertumbuhannya menjadi terhambat. ⁽²⁴⁾

Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna.⁽²⁴⁾

Selain itu, Tanaman kemangi (*Ocimum citriodorum* Vis.) bermanfaat untuk bumbu penyedap makanan dan memberikan keharuman baik daun yang di keringkan atau daun segar. Beberapa manfaat lain bagi kesehatan tubuh seperti mengatasi demam, mencegah gangguan jantung, anti inflamasi, menurunkan efek nikotin, menurunkan stress, mencegah penyakit diabetes serta mengatasi batu ginjal.⁽²⁵⁾

2.2 *Escherichia coli*

2.2.1 Taksonomi *Escherichia coli*



Gambar 2. Bakteri *Escherichia Coli*

Kingdom: Bacteria

Divisi : Proteobacteria

Classis : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

*Spesies : Escherichia coli*²⁶

2.2.2 Morfologi *Escherichia coli*

Kuman berbentuk batang pendek (kokobasil), berjenis gram *negative* dan berukuran 0,4-0,7 um x 1,4 um, Sebagian besar gerak positif dan beberapa *strain* mempunyai kapsul. ⁽²⁷⁾

2.2.3 Gejala Klinik Bakteri *Escherichia Coli*

1. Infeksi Saluran Kemih

Infeksi saluran kemih adalah salah satu jenis infeksi yang paling sering terjadi. Infeksi ini bisa terjadi disalura ginjal (ureter), kandung kemih (bladder), atau saluran kencing bagian luar (uretra). Wanita lebih banyak terserang ISK karena uretra wanita lebih pendek dibandingkan dengan uretra pria sehingga bakteri mudah menjangkaunya. Infeksi saluran kemih banyak disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*. ⁽²⁷⁾

Gejala dan tanda meliputi sering berkemih, dysuria, hematuria, dan priuria. Nyeri pinggang berkaitan dengan saluran kemih bagian atas. Infeksi saluran kemih dapat menyebabkan bakteremia dengan tanda klinis sepsis. ⁽²⁷⁾

2. Diare

Menurut *World Health Organization* (WHO) diare adalah penyakit kedua yang menyebabkan kematian pada anak-anak setelah pneumonia. Diare pada anak sering disebabkan oleh rotavirus atau sejumlah infeksi bakteri lainnya, seperti cacing mikroskopis, namun diare dapat mudah disembuhkan jika diobati secara dini. ⁽²⁷⁾

Escherichia coli yang sangat umum ditemukan di seluruh dunia. *Escherichia coli* diklasifikasikan berdasarkan sifat virulensinya, dan tiap grup menyebabkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda. Beberapa serogroup *Escherichia coli* dibagi menjadi:

a. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

EPEC merupakan penyebab diare pada bayi pada negara berkembang. Dahulu, EPEC dikaitkan dengan wabah diare di ruang perawatan bayi di negara maju. EPEC melekat pada sel mukosa usus halus dan menyebabkan pendaratan microvilli, pembentukan struktur yang

mirip mangkok atau alas aktin filamentosa dan terkadang EPEC masuk kedalam sel mukosa. Infeksi EPEC terjadilah diare cair yang bisa sembuh seponatan dan bisa juga menjadi kronis. ⁽²⁷⁾

b. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Mengkolonisasi fimbriae yang diekspresikan oleh ETEC memungkinkan bakteri untuk menempel pada dinding usus. Setelah terhubung, ETEC mengekspresikan toksin Labil Panas (LT) dan atau toksin tahan panas (TP) yang merupakan toksin sekretori yang dikodekan pada plasmid. LT merangsang adenilat siklase yang menyebabkan peningkatan siklik adenosin monofosfat (Camp) Intraseluler dan sekresi klorida berikutnya dari sel kriptas usus. Mekanisme ini juga menghambat villi usus untuk penyerapan natrium klorida dan menyebabkan sekresi air bebas ke dalam lumen usus, sehingga menghasilkan diare berair. ⁽²⁷⁾

c. *Shiga toxin producing Escherichia coli* (STEC)

STEC dinamakan untuk toksin sitotoksik yang dihasilkan oleh *Escherichia coli*. Terdapat 2 bentuk toksin antigenic yaitu shiga-1 dan toksin mirip shiga-2. STEC telah dikaitkan dengan colitis hemoragik, suatu bentuk diare yang bera, dan dengan sindrom uremic hemolitik, suatu penyakit yang menyebabkan gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopati, dan trombositopenia. ⁽²⁷⁾

d. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

EIEC menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit ini yang paling sering terjadi pada anak di negara berkembang. Galur EIEC bersifat nonmotil dan tidak memfermentasi atau lambat memfermentasi laktosa. EIEC menyebabkan penyakit dengan cara menginvasi sel epitel mukosa usus. ⁽²⁷⁾

e. *Enteraggagative Escherichia coli* (EAEC)

EAEC menyebabkan diare akut dan kronik (durasi > 14 hari) pada masyarakat di negara berkembang. Organisme ini juga merupakan penyebab penyakit yang ditularkan melalui makanan di negara maju.

Galur *Escherichia coli* ini ditandai oleh pola perlekatannya yang khas pada sel manusia. EAEC menghasilkan toksin mirip-ST dan hemosilin.⁽²⁷⁾

3. Sepsis

Jika pertahanan normal pada pejamu tidak adekuat, *Escherichia coli* dapat masuk ke aliran darah dan menyebabkan sepsis. Neonates mungkin sangat rentan terhadap sepsis *Escherichia coli* karena tidak mempunyai antibody igM. Sepsis dapat terjadi sekunder akibat infeksi saluran kemih.⁽²⁷⁾

4. Meningitis

Escherichia coli dan *streptococcus* grup B merupakan penyebab utama meningitis pada janin sekitar 75% bakteri tersebut memiliki antigen K1. Antigen tersebut bereaksi-silang dengan polisakarida kapsuler grup B N meningitidis. mekanisme virulensi yang berkaitan dengan antigen K1 belum dipahami.⁽²⁷⁾

2.3 Antibakteri

Antibiotik adalah antibakteri yang digunakan untuk membasmi mikroorganisme. Berdasarkan kerjanya antibiotik dibagi menjadi dua yaitu antibiotik berspektrum luas dan berspektrum sempit. Berdasarkan mekanisme kerjanya, dibagi sebagai berikut:

a. Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel

Antibiotik yang merusak lapisan peptidoglikan penyusun dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Contohnya, antibiotik golongan penisilin, yang mekanisme kerjanya dengan cara mencegah ikatan silang peptidoglikan pada tahap akhir sintesis dinding sel, yaitu menghambat protein pengikat penisilin (penicillin binding protein). Protein ini merupakan enzim di dalam membran plasma sel bakteri yang berperan dalam penambahan asam amino dan berikatan silang dengan peptidoglikan dinding sel bakteri, lalu memblokir aktivitas enzim transpeptidase yang membungkus ikatan silang polimer-polimer gula panjang pembentuk dinding sel bakteri sehingga dinding sel menjadi rapuh dan mudah lisis.

Antibiotik dengan mekanisme kerja mempengaruhi dinding sel adalah penisilin, metisilin, oxasilin, aminopenisilin (ampisilin, amoksisilin), monobaktam, sefalosporin, karbapenem, dan isoniazid (INH).⁽²⁸⁾

b. Antibiotik yang merusak membrane plasma

Antibiotik merusak membran plasma dengan cara menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang (barrier) osmosis, juga mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran. Antibiotik yang merusak membran plasma diantaranya adalah golongan polipeptida yang mengubah permeabilitas membrane plasma bakteri. Contohnya polimiksin yang mekanisme kerjanya melekat pada fosfolipid membran. Polimiksin merupakan peptida dimana salah satu ujung molekulnya larut terhadap lipid dan ujung yang lain larut terhadap air. Ujung yang larut air tertinggal di luar membran dan ujung yang larut lemak berada di dalam membran. Proses ini akan menyebabkan gangguan antara lapisan membran yang menyebabkan substansi bebas keluar-masuk sel. Antibiotik yang mampu merusak membran sel diantaranya adalah polimiksin, amfoterisin B, mikonazol, dan ketokonazol.⁽²⁸⁾

c. Antibiotik yang menghambat sintesis protein

Mekanisme kerja antibiotik dengan cara menghambat sintesis protein yang berikatan dengan sub unit 30S ribosom bakteri, beberapa juga terikat pada sub unit 50S ribosom dan menyebabkan terhambatnya translokasi peptidil-tRNA dari situs A ke situs P, yang menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA. Hal ini menyebabkan ketidakmampuan bakteri untuk mensintesis protein vital untuk pertumbuhannya. Antibiotik yang menghambat sintesis protein diantaranya adalah golongan aminoglikosida, tetrasiklin, doksisisiklin, kloramfenikol, eritromisin, klaritromisin, klindamisin, dan rifampisin.⁽²⁸⁾

d. Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat

Antibiotik bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat berupa penghambatan transkripsi dan replikasi DNA. Antibiotik mengganggu atau merusak struktur dan fungsi DNA yang mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Antibiotik yang tergolong dalam kelompok ini adalah rifampin, asam nalidiksat, dan fluorokuinolon (nofloksasin, siprofloksasin).⁽²⁸⁾

e. Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial

Mekanisme kerja antibiotik dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit, yang merupakan substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit bakteri dan memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Penghambatan dilakukan dengan cara menggabungkan enzim sedemikian rupa sehingga mencegah kombinasi substrat enzim dan reaksi-reaksi katalitik. Contohnya pada PABA, yang merupakan substrat penting untuk mensintesis asam folat pada bakteri. Bila sulfa drug berikatan dengan enzim, maka tidak terbentuk asam folat. Antibiotik yang tergolong adalah sulfanilamid, trimethoprim, dan sulfametoksazol.⁽²⁸⁾

2.4 Afek Samping Antibakteri

Efek samping antibakteri yang paling sering terjadi adalah resistensi. Resistensi diartikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya. *Multi drugs resistance* adalah keadaan resistensi terhadap dua atau lebih obat maupun klasifikasi obat. Konsekuensi yang ditimbulkan akibat adanya resistensi diantaranya adalah perpanjangan penyakit (*prolonged illness*) yang bila berkepanjangan dapat menyebabkan kematian. Ketika tubuh resisten terhadap obat lini pertama, maka harus digunakan antibiotik lini kedua atau ketiga, yang tentu harganya mahal dan tidak jarang memiliki toksisitas yang lebih tinggi.⁽²⁹⁾

Konsekuensi lain adalah dari sisi ekonomi dimana dibutuhkan antibiotik generasi baru yang belum resisten terhadap tubuh yang

membutuhkan biaya yang lebih mahal dan belum tentu dapat dijangkau semua kalangan masyarakat. Semakin mahal antibiotik menyebabkan masyarakat tidak mampu menjangkau sehingga menyebabkan semakin banyak *carrier* resisten antibiotik di masyarakat, dan semakin banyak galur baru bakteri yang bermutasi dan menjadi resisten terhadap antibiotik.⁽³⁰⁾

2.5 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.⁽³¹⁾

Ekstraksi adalah suatu proses yang dilakukan untuk memperoleh kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan. Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mencari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar cahaya matahari langsung, ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbu. Cairan penyari yang digunakan air, etanol, dan campuran etanol.⁽³²⁾ Menurut Ditjen POM (2000), bebekrapa metode ekstraksi:⁽³³⁾

2.5.1 Ekstraksi Cara Dingin

Pada metode ekstraksi cara dingin tidak dilakukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung dengan tujuan agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak. Beberapa jenis metode ekstraksi cara dingin, yaitu:

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut diam atau dengan adanya pengadukan beberapa kali pada suhu ruangan. Metoda ini dapat dilakukan dengan cara merendam bahan dengan sekali-sekali dilakukan pengadukan. Pada umumnya perendaman dilakukan selama 24 jam, kemudian pelarut diganti dengan pelarut baru. Maserasi juga dapat dilakukan dengan pengadukan secara sinambung (maserasi kinetik). Kelebihan dari metode ini yaitu efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas

(terdegradasi karena panas), peralatan yang digunakan relatif sederhana, murah, dan mudah didapat. Namun metode ini juga memiliki beberapa kelemahan yaitu waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak, dan adanya kemungkinan bahwa senyawa tertentu tidak dapat diekstrak karena kelarutannya yang rendah pada suhu ruang.⁽³³⁾

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan bahan yang disusun secara unggul dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai prosesnya sempurna dan umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Prosedur metode ini yaitu bahan direndam dengan pelarut, kemudian pelarut baru dialirkan secara terus menerus sampai warna pelarut tidak lagi berwarna atau tetap bening yang artinya sudah tidak ada lagi senyawa yang terlarut. Kelebihan dari metode ini yaitu tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dengan ekstrak, sedangkan kelemahan metode ini adalah jumlah pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan proses juga memerlukan waktu yang cukup lama, serta tidak meratanya kontak antara padatan dengan pelarut.⁽³³⁾

2.5.2 Ekstraksi Cara Panas

Pada metode ini melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung. Adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin. Beberapa jenis metode ekstraksi cara panas, yaitu:

a. Ekstraksi Refluks

Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada umumnya dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses pada rafinat pertama. Kelebihan metode refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat diekstrak

dengan metode ini. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang banyak. ⁽³³⁾

b. Ekstraksi dengan alat Soxhlet

Ekstraksi dengan alat soxhlet merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada metode ini, padatan disimpan dalam alat soxhlet dan dipanaskan, sedangkan yang dipanaskan hanyalah pelarutnya. Pelarut terdinginkan dalam kondensor, kemudian mengekstraksi padatan. Kelebihan metode soxhlet adalah proses ekstraksi berlangsung secara kontinu, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih sebentar dan jumlah pelarut yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Kelemahan dari metode ini adalah dapat menyebabkan rusaknya solute atau komponenlainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus. ⁽³³⁾

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan terus menerus) pada temperature yang lebih tinggi dari temperature ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40-50 derajat celcius. ⁽³³⁾

d. Infus

Ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperature terukur 96-98 derajat Celcius) selama waktu tertentu (15-20 menit). ⁽³³⁾

e. Dekok

Infus pada waktu yang lebih lama dan temperature sampai titik didih air. ⁽³³⁾

2.6 Fraksinasi

2.6.1 Cairan Penyakit Untuk Fraksi

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama, kandungan satu dari golongan utama lainnya berdasarkan polaritas. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan terjadi fraksi yang berbeda. Senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar, senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar, sedangkan yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar. Keuntungan fraksinasi adalah diperolehnya isolat atau senyawa yang lebih spesifik terhadap polaritas pelarut yang digunakan.⁽³⁴⁾

Cairan penyari untuk fraksi:

a. Etanol

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman kulit tidak dapat tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada skala perbandingan, panas diperlukan lebih sedikit.⁽³⁵⁾

b. N-Heksana

Pelarut n-heksana merupakan pelarut nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar, dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. n-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak, dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan korotenoid.⁽³⁶⁾

c. Etil Asetat

Etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah. Etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon flavonoid. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, polifenol, dan triterpenoid. ⁽³⁷⁾

d. Air

Air adalah pelarut universal, digunakan untuk ekstrak tanaman dengan produk aktivitas antimikroba. Air digunakan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan minyak menguap, glikosida, flavonoid, tanin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, pectin, zat warna dan asam organik. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat ikut tersari sehingga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian. ⁽³⁶⁾

2.7 Pengukuran aktivitas antimikroba

Untuk mengetahui kemampuan dan sifat dari suatu antibakteri dapat ditentukan dengan melakukan uji sensitivitas bakteri melalui dua metode yaitu metode dilusi dan metode difusi.²⁷

1. Metode dilusi

Metode dilusi menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau agar. Tujuan metode dilusi yaitu untuk menentukan konsentrasi terendah pada uji antimikrobal yang menghambat pertumbuhan bakteri yang diujikan. Metode ini mengukur *Minimum inhibitory concentration* (MIC) atau konsentrasi hambat minimum (KHM) dan *Minimum bactericidal concentration* (MBC) atau konsentrasi bunuh minimum (KBM). Pada metode dilusi terdapat dua jenis yaitu:

A. Metode dilusi cair/ *broth dilution test*

Metode ini digunakan untuk mengukur konsentrasi hambat minum (KHM) dan konsentrasi bunuh minum (KBM). Cara yang dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan agen mikroba 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 mikroba, kemudian diinkubasi, pada media cair yang terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.⁽²⁷⁾

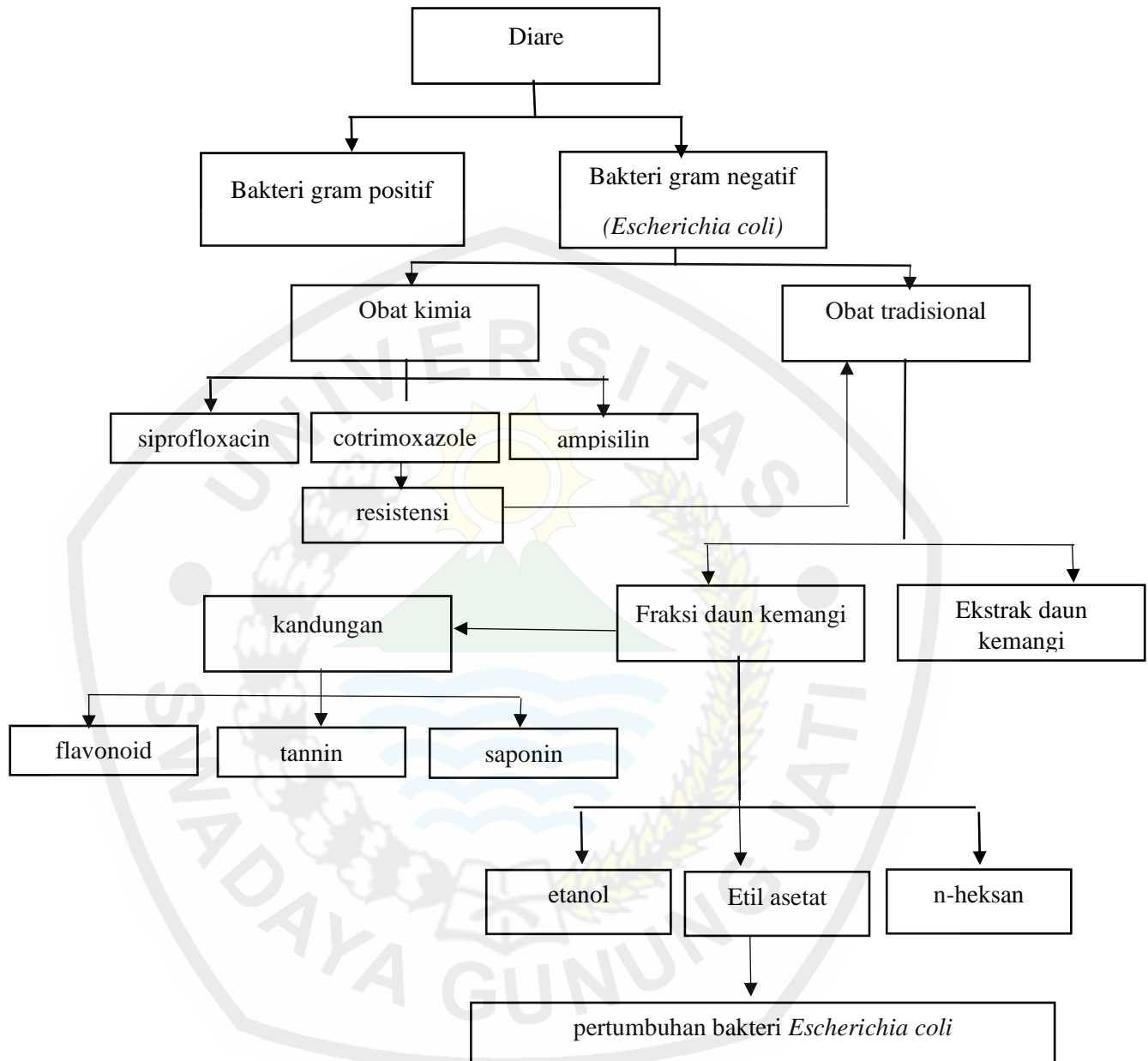
B. Metode dilusi padat/ *solid dilution test*

Metode ini hampir sama dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah konsentrasi agen mikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.⁽²⁷⁾

2. Metode difusi

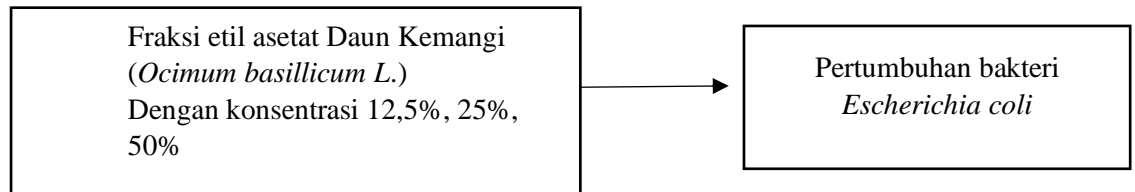
Metode *disc diffusion* (test Kirby dan Bauer) adalah metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Cakram yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh bahan antibakteri pada permukaan media agar. Area jernih kemudian diukur dengan jangka sorong. Ukuran zona jernih tergantung kepada kecepatan difusi antibakteri, derajat sensitivitas bakteri, dan kecepatan pertumbuhan bakteri.⁽²⁷⁾

2.8 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

2.9 Kerangka konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

Keterangan:

→ : menghambat

2.10 Hipotesis Mayor

Fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basillicum L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

2.11 Hipotesis Minor

1. Terdapat kadar hambat minimum (KHM) pertumbuhan *Escherichia coli* setelah diberikan fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basillicum L.*) dengan konsentrasi 12,5%
2. Terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basillicum L.*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.