

**ANALISIS KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM EKSTRAK ETANOL  
DAUN KEMANGI (*OCIMUM BASILICUM*) TERHADAP BAKTERI  
*MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MELALUI METODE  
*RESAZURIN MICROTITER ASSAY* (REMA) SECARA *IN-VITRO***



Oleh:

dr. Nurlina Setiadi

2208330005

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIS  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA  
MEDAN  
2025**

MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN &  
PENGEMBANGAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH  
SUMATERA UTARA



**FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.

20 Fax. (061) 7363488

Website : [fk@umsu.ac.id](mailto:fk@umsu.ac.id)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**HALAMAN PENGESAHAN**

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : dr. Nurlina Setiadi

NPM : 2208330005

Judul Tesis : Analisis Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap Bakteri *Mycobacterium Tuberculosis* melalui Metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) secara *In-Vitro*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima untuk diteruskan ke ranah penelitian.

**DEWAN PENGUJI**

Pembimbing 1,

Assoc. Prof. Dr. dr. Humairah  
Medina Liza Lubis, M.Ked(PA., Sp.PA)

Pembimbing 2,

dr. Ikhfana Syafina, M.Ked  
(Paru), Sp.P(K)

Unggul | Cerdas | Terpercaya

Penguji 1,

dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL (K)

Penguji 2,

Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd, M.Kes

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah *Subhanallahu Wata'ala* karena berkat rahmatNya saya dapat menyelesaikan tesis ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Biomedis pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu saya mengucapkan terima kasih kepada:

- 1) dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dan dosen penguji 1 yang telah memberikan saran dan arahan dalam penyusunan tesis ini.
- 2) Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd, M.Kes selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dan dosen penguji 2 yang telah memberikan saran dan arahan dalam penyusunan tesis ini.
- 3) Assoc. Prof. Dr. dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked(PA)., Sp.PA selaku Dosen Pembimbing 1 yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini.
- 4) dr. Ikhfana Syafina, M.Ked(Paru)., Sp.P(K) selaku Dosen Pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini.
- 5) Asisten laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada dan asisten laboratorium biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah membantu penulis dalam menjalani serangkaian proses penelitian hingga penelitian selesai.
- 6) Suami saya Devara Diadema Adianggoro, S.T., kedua orang tua saya Ayahanda Hendra Setiadi dan Ibunda Hj. Susi Handayani, serta kedua adik saya Andi Setiadi, LC dan Apt. Siti Anisa, S.Farm yang telah memberikan motivasi dan dukungan berupa doa yang tiada henti agar penulis dapat menyelesaikan studi dan menulis tesis ini.

- 7) Teman-teman mahasiswa S2 Ilmu Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Angkatan pertama yang telah menjadi tempat untuk berdiskusi dan saling berbagi ilmu yang bermanfaat selama masa pendidikan.
- 8) Pihak-pihak lain yang telah banyak membantu dalam usaha memperoleh data yang saya perlukan.

Saya menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran demi kesempurnaan tulisan ini sangat saya harapkan.

Akhir kata, saya berharap Allah *Subhanahu Wata'ala* berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

*Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

Medan, 23 Juli 2025

Penulis,



dr. Nurlina Setiadi

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TESIS UNTUK  
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : dr. Nurlina Setiadi

NPM : 2208330005

Fakultas : Ilmu Biomedis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas tesis saya yang berjudul: **Analisis Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap Bakteri *Mycobacterium Tuberculosis* melalui Metode *Resazurin Microtiter Assay (Rema)* secara *In-Vitro***

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal: 23 Juli 2025

Yang menyatakan



(dr. Nurlina Setiadi)

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Tuberkulosis (TB) hingga saat ini masih menjadi masalah kesehatan global dengan angka kematian tertinggi kedua di dunia, terutama akibat resistensi terhadap obat lini pertama. Indonesia sebagai salah satu negara dengan beban TB tertinggi membutuhkan alternatif terapi baru yang lebih aman dan efektif. Daun kemangi (*Ocimum basilicum*) diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang menjanjikan karena kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis konsentrasi hambat minimum dari ekstrak etanol daun kemangi terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv secara in-vitro menggunakan metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA).

**Metode:** Penelitian eksperimental ini menggunakan desain *post-test only control group* secara in-vitro dengan metode penelitian deskriptif kualitatif. Ekstrak etanol daun kemangi dibuat dengan metode maserasi pada konsentrasi 2,5%, 1,25%, dan 0,625%. Aktivitas antimikrobakteri diuji menggunakan metode REMA, dimana perubahan warna resazurin dari biru ke merah muda menandakan pertumbuhan bakteri. Rifampisin digunakan sebagai kontrol positif dan media tanpa ekstrak sebagai kontrol negatif.

**Hasil:** Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi pada konsentrasi ekstrak 2,5%, 1,25% dan 0,625% melalui metode REMA menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda, sedangkan pada kelompok kontrol positif tetap berwarna biru.

**Kesimpulan:** Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi terhadap pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dinilai melalui metode REMA.

**Kata Kunci:** Daun Kemangi, Konsentrasi Hambat Minimum, *Mycobacterium tuberculosis*, REMA

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Tuberculosis (TB) remains a global health issue and is currently the second leading cause of death from infectious diseases worldwide, primarily due to resistance to first-line drugs. Indonesia, as one of the countries with the highest TB burden, requires new therapeutic alternatives that are safer and more effective. Basil leaves (*Ocimum basilicum*) have been shown to possess promising antimicrobial activity due to their bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins.

This study aims to analyse the minimum inhibitory concentration (MIC) of ethanol extract of basil leaves against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv in vitro using the Resazurin Microtiter Assay (REMA) method.

**Methods:** This was an in-vitro experimental study using a post-test only control group design. Ethanol extract of basil leaves was prepared via maceration and tested at concentrations of 2.5%, 1.25%, and 0.625%. Antimycobacterial activity was evaluated using the REMA method, where a colour change of resazurin from blue to pink indicated bacterial growth. Rifampicin served as a positive control and media without extract served as a negative control.

**Results:** The results showed that ethanol extract of basil leaves at concentrations of 2.5%, 1.25%, and 0.625% using the REMA method showed a color change to pink, whereas the positive control group remained blue.

**Conclusion:** There was no effect of ethanol extract of basil leaves on the growth of *Mycobacterium tuberculosis* as assessed by the REMA method.

**Keywords:** Basil Leaves, Minimum Inhibitory Concentration, *Mycobacterium tuberculosis*, REMA

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI ILMIAH .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1. Tuberkulosis.....	6
2.1.1. Definisi .....	6
2.1.2. Struktur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	6
2.1.3. Epidemiologi.....	7
2.1.4. Patogenesis .....	9
2.1.5. Peran Sitokin dalam Infeksi TB.....	11
2.1.6. Diagnosis .....	12
2.1.7. Tatalaksana.....	18
2.2. Daun Kemangi.....	22
2.2.1. Kategori Hierarki Taksonomi Daun Kemangi .....	22
2.2.2. Karakteristik .....	23
2.2.3. Fitokimia.....	23

2.2.4. Aktivitas Farmakologi .....	24
2.3. Kerangka Teori .....	28
2.4. Kerangka Konsep.....	29
2.5. Hipotesis .....	29
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>30</b>
3.1. Definisi Operasional .....	30
3.2. Jenis Penelitian .....	30
3.3. Waktu dan Tempat Penelitian .....	30
3.4. Populasi dan Sampel Penelitian.....	31
3.5. Variabel Penelitian .....	32
3.5.1. Variabel Bebas .....	32
3.5.2. Variabel Terikat.....	32
3.6. Alat dan Bahan Penelitian .....	32
3.6.1. Alat .....	32
3.6.2. Bahan .....	33
3.7. Langkah-Langkah Penelitian .....	33
3.7.1. Pengolahan Simplisia Daun Kemangi .....	33
3.7.2. Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi .....	34
3.7.3. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi .....	35
3.7.4. Uji Fitokimia.....	35
3.7.5. Uji Kepekaan Metode REMA .....	36
3.8. Analisis Data.....	37
3.9. Alur Penelitian .....	38
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>39</b>
4.1. Hasil Penelitian.....	39
4.1.1. Hasil Uji Daun Kemangi .....	39
4.1.2. Hasil Skrining Fitokimia .....	40
4.1.3. Hasil Analisis Data .....	40
4.2. Pembahasan .....	45
4.3. Keterbatasan Penelitian .....	48

<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>49</b>
5.1. Kesimpulan.....	49
5.2. Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>59</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Sitokin-Sitokin yang Diperoduksi selama Infeksi M.tb .....	12
Tabel 3.1. Definisi Operasional.....	30
Tabel 4.1. Hasil Uji Daun Kemangi .....	39
Tabel 4.2. Hasil Skrining Fitokimia .....	40
Tabel 4.3. Hasil Uji Potensi Rifampisin terhadap Bakteri Mtb.....	41
Tabel 4.4. Hasil Uji Potensi Ekstrak Daun Kemangi terhadap Bakteri Mtb....	41
Tabel 4.5. Hasil Kadar Hambat Minimum (KHM) .....	42

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Morfologi <i>M. tuberculosis</i> dengan mikroskop elektron .....	7
Gambar 2.2.	Epidemiologi tuberkulosis secara global.....	8
Gambar 2.3.	<i>M. tuberculosis</i> pada Pewarnaan <i>Ziehl-Neelsen</i> .....	13
Gambar 2.4.	Karakteristik morfologi <i>M. tuberculosis</i> pada media kultur.....	15
Gambar 2.5.	Prinsip kerja <i>resazurin microtiter assay</i> (REMA).....	17
Gambar 2.6.	Daun kemangi.....	22
Gambar 2.7.	Struktur kimia daun kemangi .....	24
Gambar 2.8.	Kerangka teori .....	28
Gambar 2.9.	Kerangka konsep .....	29
Gambar 3.1.	Alur penelitian .....	38
Gambar 4.1.	Kadar hambat minimum .....	44

## DAFTAR SINGKATAN

TB	: Tuberkulosis
HIV/AIDS	: <i>Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Disease Syndrome</i>
MDR	: <i>Multi Drug Resistant</i>
REMA	: <i>Resazurin Microtiter Plate Assay</i>
TNF- $\alpha$	: Tumor Necrosis Factor $\alpha$
IFN- $\gamma$	: <i>Interferon gamma</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
M.tb	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
BTA	: Bakteri tahan asam
MIC	: <i>Minimum inhibitory concentration</i>
CD4+	: <i>Cluster of differentiation 4</i>
Th1	: T helper 1
IL	: Interleukin
Sel NK	: <i>Sel natural killer</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
TGF- $\beta$	: Tumor Growth Factor $\beta$
PCR	: <i>Polymerase chain reaction</i>
ELISA	: <i>Enzyme linked immune-absorbent assay</i>
PAP	: <i>Peroksidase anti peroksidase</i>
BACTEC	: <i>Becton Dickinson Diagnostic Instrument System</i>
IUATLD	: <i>International Union Against Tuberculosis and Lung Disease</i>
TCM	: Tes cepat molecular
MGIT	: <i>Mycobacteria Growth Indicator Tube</i>
INH	: Isoniazid
Rif	: Rifampicin
RNA	: <i>Ribonucleotide acid</i>
NAAT	: <i>Nucleic Acid Amplification Test</i>
IGRA	: <i>Interferon-Gamma Release Assay</i>
MBC	: <i>Minimum Bactericidal Concentration</i>
CYP34A	: <i>Cytochrome P34A</i>
PBMC	: <i>Peripheral blood mononuclear cells</i>
CCL2	: C-C motif ligand 2
PPA	: Phenylpropanolamine HCl

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) hingga saat ini masih menjadi masalah kesehatan yang serius di dunia. Pada tahun 2022, TB menempati urutan kedua sebagai penyebab kematian terbesar di dunia yang disebabkan oleh agen infeksi setelah penyakit COVID-19, dan menyebabkan kematian dua kali lipat lebih banyak daripada HIV/AIDS.<sup>1</sup> Lebih dari 10 juta orang menderita TB setiap tahunnya. Pada tahun 2019 sebanyak 7,1 juta orang terdiagnosis TB, pada tahun 2020 sebanyak 5,8 juta orang, pada tahun 2021 sebanyak 6,4 juta orang dan pada tahun 2022 dilaporkan meningkat sebanyak 7,5 juta orang dan diperkirakan sekitar 1,3 juta orang meninggal dunia. Terdapat 30 negara yang menyumbangkan kasus TB mencapai 87% dari total kasus TB di seluruh dunia pada tahun 2022, dan dua pertiga dari total global berada di delapan negara, yaitu India (27%), Indonesia (10%), China (7,1%), Filipina (7%), Pakistan (4,5%), Bangladesh (3,6%) dan Republik Demokratik Kongo (3%).<sup>2,3</sup>

Pada level regional, insidensi TB menunjukkan peningkatan pada tahun 2022 di 3 dari 6 regio *World Health Organization* (WHO), yaitu regio Amerika, Asia Tenggara dan Pasifik Barat. Secara geografis kasus TB ditemukan terbanyak di Asia Tenggara (45,6%), Afrika (23,3%), Pasifik Barat (17,8%) dan yang terkecil di Mediterania Timur (8,1%), Amerika (2,9%) dan Eropa (2,2%)<sup>4</sup>. Dua negara dengan kontributor terbesar dalam pelaporan jumlah populasi baru terdiagnosis TB paru pada tahun 2022 adalah India dan Indonesia, yaitu peningkatan sebesar 56% pada tahun 2021 hingga 2022.<sup>2,5</sup>

Penyakit TB di Indonesia menempati peringkat kedua setelah India. Insidensi TB di Indonesia pada tahun 2021 adalah sebesar 969.000 atau 354 per 100.000 penduduk, sementara TB dengan HIV sebesar 22.000 kasus per tahun atau 8,1 per 100.000 penduduk. Pada tahun 2022 terdapat sekitar 724.000 kasus TB dan pada tahun 2023 naik menjadi 809.000 kasus.<sup>4</sup> Provinsi Sumatera Utara menempati urutan ke-3 dengan beban kasus TB tertinggi se-Indonesia setelah Jawa Barat dan

Jawa Timur dengan estimasi kasus sebanyak 83.949. Berdasarkan data hingga 14 September 2023, jumlah kasus TB adalah 31.150 kasus (37,1% target 91%), sedangkan persentase keberhasilan pengobatan Provinsi Sumatera Utara yaitu 90,4% target 90%.<sup>2</sup>

Diagnosis dini dan pengobatan yang tepat merupakan kunci keberhasilan dalam menuntaskan penyakit TB. Saat ini terapi standard yang direkomendasikan sebagai terapi TB adalah kombinasi obat antibiotik isoniazid, rifampisin, pirazinamid dan etambutol. Namun obat-obatan ini juga memiliki berbagai efek samping sehingga tidak jarang menimbulkan ketidakpatuhan pasien yang memicu durasi terapi yang lebih panjang serta munculnya resistensi obat.<sup>6</sup> Deteksi awal terhadap TB *multi drug resistance tuberculosis* (TB-MDR) sangat penting untuk mengontrol kasus TB. Pengobatan TB tanpa adanya informasi kepekaan akan meningkatkan kegagalan pengobatan sehingga akan lebih menyebarkan strain resisten. Hal ini menyebabkan TB semakin meluas dan sulit untuk dieradikasi.<sup>7</sup>

Dibutuhkan diagnosis cepat dalam mendeteksi adanya resistensi obat, salah satunya yaitu dengan uji resistensi obat secara fenotipik menggunakan *resazurin microtiter plate assay* (REMA). Metode ini merupakan metode inovatif yang relatif baru dan sedang dikembangkan untuk mendeteksi adanya resistensi obat secara cepat, sederhana dan tidak mahal.<sup>8</sup> Metode ini juga digunakan untuk menguji keaktifan senyawa anti-mikobakterium dalam kandungan alami seperti tanaman obat.<sup>9</sup> Metode ini menggunakan resazurin sebagai indikator dengan prinsip oksidasi-reduksi. Berdasarkan penelitian sebelumnya, metode ini memiliki sensitivitas 98% dan spesifisitas 94% serta dapat dijadikan sebagai alternatif dari pemeriksaan baku emas dalam deteksi fenotipik resistensi obat pada *M. tuberculosis*.<sup>10</sup>

Indonesia memiliki sumber hayati yang beraneka ragam, termasuk jenis tumbuhan yang memiliki banyak manfaat secara farmakologi. Salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum*). Daun ini dijuluki sebagai “raja herbal” yang sumbernya secara alami berasal dari wilayah tropis dan subtropis Asia, memiliki sumber polifenol yang berlimpah dan diketahui sejak lama dapat digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit melalui

fungsinya sebagai anti-inflamasi, anti-oksidan, imunomodulator, anti-mikroba, analgetik dan diuretik.<sup>11,12</sup>

Di Indonesia tanaman daun kemangi banyak digunakan di pulau-pulau besar, seperti Sulawesi, Sumatera, dan Kalimantan. Suku di Kolaka yaitu Kolaka Timur, Sulawesi Tenggara, menggunakan daun kemangi untuk mengobati tuberkulosis.<sup>13</sup> Sebuah studi melaporkan bahwa ekstrak dari daun kemangi (6,25 µg/ml pelarut) dapat membantu memperbaiki gejala TB paru.<sup>14</sup> Penelitian lainnya menunjukkan bahwa daun kemangi memiliki aktivitas antimikroba yang menjanjikan terhadap strain *M. tuberculosis* dan *M. bovis*. Aktivitas ini dikaitkan dengan bahan bioaktif yang terkandung didalamnya, seperti saponin, tannin, alkaloid, flavonoid dan polifenol.<sup>15</sup> Flavonoid memainkan peranan penting dalam mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas secara langsung, memiliki aktivitas anti-inflamasi atau immunoregulator dengan cara memodulasi produksi dari mediator-mediator pro-inflamasi sehingga menurunkan produksi dari sitokin pro-inflamasi seperti IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  dan sitokin lainnya.<sup>16</sup>

Sebuah penelitian melaporkan efek anti-tuberkulosis dari minyak atsiri *Ocimum sanctum L.* (OsEO). OsEO menghambat pertumbuhan H37Rv dengan MIC sebesar 3 ml (2,931 mg). OsEO juga menghambat pertumbuhan kesembilan isolat klinis *M. tuberculosis* yang diuji, dengan MIC berkisar antara 1,5 ml (1,4655 mg) hingga 6 ml (5,862 mg).<sup>17</sup> Ekstrak etanolik kasar dari biji daun kemangi menunjukkan aktivitas anti-mikobakteri terhadap *M. tuberculosis* dan *M. bovis*, dengan *minimum inhibitory concentration* (MIC) masing-masing berkisar antara 25-100 µg/ml dan 25-50 µg/ml.<sup>18</sup> Pada penelitian sebelumnya juga dilaporkan bahwa ekstrak methanol 80% daun kemangi memiliki aktivitas anti-mikobakterium terhadap *M. tuberculosis* dan *M. bovis* dengan MIC 6,25-100 µg/ml menggunakan metode REMA.<sup>19</sup>

Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk menganalisis konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* melalui metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) secara *in-vitro*.

## 1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun kemangi memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis*?
2. Berapakah konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun kemangi yang mampu menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* melalui metode REMA?
3. Bagaimana hasil uji fitokimia ekstrak daun kemangi yang berpotensi sebagai antibakteri?
4. Bagaimana perubahan warna indikator resazurin sebagai penanda adanya pertumbuhan atau hambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* pada berbagai konsentrasi uji?

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1. Tujuan Umum

Untuk menganalisis konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun kemangi terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* melalui metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) secara *in-vitro*.

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol daun kemangi terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.
2. Mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol daun kemangi yang mampu menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* melalui metode REMA.
3. Mengetahui hasil uji fitokimia ekstrak daun kemangi yang berpotensi sebagai antibakteri.
4. Mengamati dan menganalisis perubahan warna indikator resazurin sebagai penanda adanya pertumbuhan atau hambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* pada berbagai konsentrasi uji.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Manfaat Teoritis**

1. Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi antimikobakteri daun kemangi terhadap *Mycobacterium tuberculosis* serta mendukung pengembangan fitofarmaka berbasis bahan alam.

### **1.4.2. Manfaat Praktis**

1. Memberikan data awal yang dapat digunakan sebagai dasar penelitian lanjutan untuk pengembangan terapi alternatif tuberkulosis yang lebih aman dan terjangkau.
2. Memberikan informasi kepada peneliti, akademisi, dan praktisi kesehatan mengenai potensi ekstrak etanol daun kemangi dalam pengendalian *M. tuberculosis*.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Tuberkulosis**

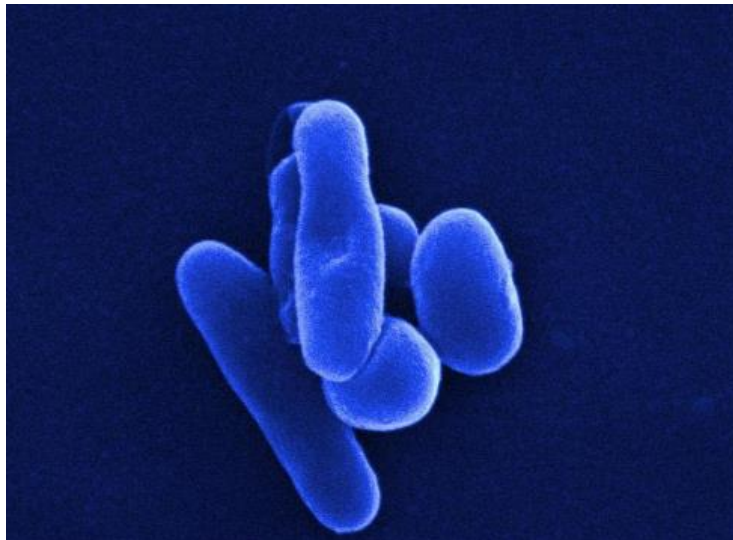
##### **2.1.1 Definisi**

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC). Kompleks *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) adalah sekelompok *Mycobacteria* yang terdiri dari *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii*, dan *Mycobacterium caprae* yang saling berhubungan secara genetik.<sup>20</sup> Bakteri *M. tuberculosis* pertama kali ditemukan oleh Robert Koch pada tahun 1882.<sup>21</sup> TB merupakan penyakit sistemik yang dapat menyerang berbagai organ seperti sistem pernapasan, sistem gastrointestinal, sistem limforetikular, kulit, sistem saraf pusat, sistem muskuloskeletal, sistem reproduksi dan hati.<sup>22,23</sup>

##### **2.1.2. Struktur *Mycobacterium tuberculosis***

*Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung, tidak memiliki spora dan tidak berkapsul. Bakteri ini berukuran lebar 0,3-0,6  $\mu\text{m}$  dan panjang 1-4  $\mu\text{m}$ . Sel *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari empat lapisan utama yaitu membran plasma, kompleks peptidoglikan arabinogalactan (AGP), membran luar asimetris atau mikomembran dan kapsul terluar. Kapsul ini terikat lemah ke dinding sel dan dilepaskan oleh media pertumbuhan dengan mempertahankan sifat fisikokimia. Sekitar 60% massa dari selubung sel *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari lipid kompleks. Molekul lipid dinding sel mikobakterium ini terdiri dari asam mikolat, fosfatidilinositol mannosides (PIMs), phitiocerosol dimycocerosates, lipomannan (LM), dan lipoarabinomannan yang berinteraksi dengan reseptor sel inang dan memfasilitasi pengambilan basil ke dalam sel inang. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan *Mycobacterium tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu apabila sekali diwarnai akan tetap tahan terhadap upaya penghilangan zat warna tersebut dengan

larutan asam-alkohol. Atas dasar karakteristik yang unik inilah bakteri dari genus *Mycobacterium* seringkali disebut sebagai Bakteri Tahan Asam (BTA).<sup>5,24</sup>



Gambar 2.1. Morfologi *Mycobacterium tuberculosis* dengan Mikroskop Elektron<sup>25</sup>

### 2.1.3. Epidemiologi

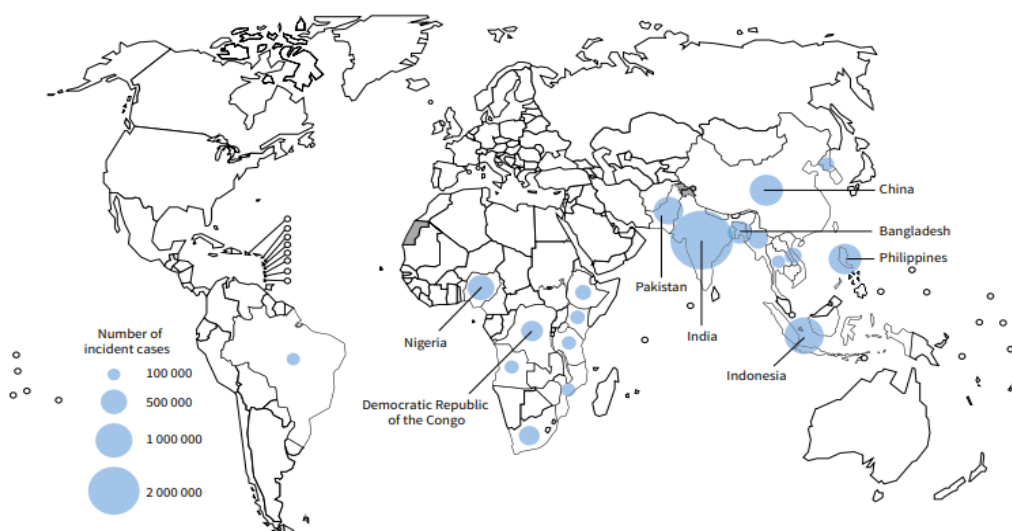
Pada tahun 2022, TB menempati urutan kedua sebagai penyebab kematian terbesar di dunia yang disebabkan oleh agen infeksi setelah penyakit COVID-19, dan menyebabkan kematian dua kali lipat lebih banyak daripada HIV/AIDS. Lebih dari 10 juta orang menderita TB setiap tahunnya. Pada tahun 2019 sebanyak 7,1 juta orang terdiagnosis TB, pada tahun 2020 sebanyak 5,8 juta orang, pada tahun 2021 sebanyak 6,4 juta orang dan pada tahun 2022 dilaporkan meningkat sebanyak 7,5 juta orang dan diperkirakan sekitar 1,3 juta orang meninggal dunia. Terdapat 30 negara yang menyumbangkan kasus TB mencapai 87% dari total kasus TB di seluruh dunia pada tahun 2022, dan dua pertiga dari total global berada di delapan negara, yaitu India (27%), Indonesia (10%), China (7,1%), Filipina (7%), Pakistan (4,5%), Bangladesh (3,6%) dan Republik Demokratik Kongo (3%).<sup>2</sup>

Pada level regional, insidensi TB menunjukkan peningkatan pada tahun 2022 di 3 dari 6 regio WHO, yaitu regio Amerika, Asia Tenggara dan Pasifik Barat. Secara geografis kasus TB ditemukan terbanyak di Asia Tenggara (45,6%), Afrika (23,3%), Pasifik Barat (17,8%) dan yang terkecil di Mediterania Timur (8,1%),

Amerika (2,9%) dan Eropa (2,2%)<sup>4</sup>. Dua negara dengan kontributor terbesar dalam pelaporan jumlah populasi baru terdiagnosis TB paru pada tahun 2022 adalah India dan Indonesia, yaitu peningkatan sebesar 56% pada tahun 2021 hingga 2022.<sup>2,5</sup>

Penyakit TB di Indonesia menempati peringkat kedua setelah India. Insidensi TB di Indonesia pada tahun 2021 adalah sebesar 969.000 atau 354 per 100.000 penduduk, sementara TB dengan HIV sebesar 22.000 kasus per tahun atau 8,1 per 100.000 penduduk. Pada tahun 2022 terdapat sekitar 724.000 kasus TB dan pada tahun 2023 naik menjadi 809.000 kasus.<sup>4</sup> Berdasarkan Riskesdas 2018 semakin bertambah usia, prevalensi tuberkulosis akan semakin tinggi, kemungkinan terjadi reaktivasi TB lebih lama dibandingkan kelompok umur dibawahnya. Sebaliknya, semakin tinggi kuintil indeks kepemilikan (yang menggambarkan kemampuan sosial ekonomi) semakin rendah prevalensi tuberkulosis. Provinsi dengan prevalensi TB terbanyak di Indonesia adalah Provinsi Jawa Barat sebesar 186.809 orang.<sup>26</sup>

Sementara itu Provinsi Sumatera Utara menempati urutan ke-3 dengan beban kasus TB tertinggi se-Indonesia setelah Jawa Barat dan Jawa Timur dengan estimasi kasus sebanyak 83.949. Berdasarkan data hingga 14 September 2023, jumlah kasus TB adalah 31.150 kasus (37,1% target 91%), sedangkan persentase keberhasilan pengobatan Provinsi Sumatera Utara yaitu 90,4% target 90%.<sup>2</sup>



Gambar 2.2. Epidemiologi Tuberkulosis secara Global<sup>2</sup>

#### 2.1.4. Patogenesis

Patogenesis tuberkulosis manusia yang disebabkan oleh *M.tb*, khususnya *M. tuberculosis*, merupakan proses rumit yang melibatkan interaksi kompleks antara sistem kekebalan tubuh host dan faktor-faktor bakteri. Kekebalan tubuh terdiri dari respons imun bawaan dan adaptif yang berperan dalam memediasi patogenesis tuberkulosis pada manusia.<sup>27</sup> Sistem imun bawaan sangat kompleks dan terdiri dari beberapa komponen, seperti epitel kulit, gastrointestinal, penapasan, genitalia, protein antimikroba, komponen humoral (komplemen dan opsinin) serta komponen seluler (neutrophil, makrofag, sel dendritik, dan sel limfoid).<sup>28</sup> Sedangkan sistem imun adaptif diinisiasi oleh pengenalan antigen oleh antigen reseptor sel limfosit. Komponen sistem imun adaptif terdiri dari sel T dan sel B serta sel dendritik.<sup>29</sup>

TB ditularkan melalui droplet aerosol yang mengandung *M. tuberculosis* yang ditularkan oleh pasien TB aktif ketika mereka batuk, bersin, atau berbicara. Setelah host baru menghirup bakteri TB, bakteri akan masuk ke saluran pernapasan dan mencapai paru-paru. Bila terinhalasi droplet dalam jumlah sedikit, kuman TB yang terdeposisi pada saluran napas akan segera difagosit dan dicerna oleh sistem imun non-spesifik yang diperankan oleh makrofag. Pada titik ini, sistem kekebalan bawaan host berperan untuk mengendalikan infeksi, dimana basil tuberkel diinternalisasi oleh makrofag alveolar. Ketika makrofag gagal menghambat atau menghancurkan basil, bakteri berkembang biak dalam lingkungan intraseluler, kemudian dilepaskan dan difagositosis oleh makrofag alveolar lainnya dan siklus terus berlanjut. Beberapa fungsi makrofag pada infeksi *M.tb* adalah fagositosis, induksi produksi antimikroba dan memberikan respon terhadap *interferon gamma* (IFN- $\gamma$ ). Makrofag melaksanakan berbagai fungsinya melalui sejumlah reseptor yang terletak di permukaan sel. Kuman yang berkembang biak di dalam makrofag ini akan keluar saat makrofag mati. Sistem imun akan merespon dengan membentuk barrier atau pembatas di sekitar area yang terinfeksi dan membentuk granuloma. Pada tahap ini, host masih tidak menunjukkan gejala, dan bakteri TB mungkin tereliminasi sepenuhnya atau memasuki fase laten di dalam granuloma. Namun, saat sistem kekebalan tubuh terganggu, penyakit ini segera berkembang

menjadi TB aktif dengan gejala klinis. Jika respon imun tidak dapat mengontrol infeksi ini, maka barrier ini dapat ditembus oleh kuman TB. Aktivasi makrofag memicu produksi sitokin proinflamasi dan mengaktifkan *mucosal-associated invariant T cells* yang merangsang produksi IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$ .<sup>5,6,30,31</sup>

Infeksi *M. tuberculosis* dapat mengakibatkan tuberkulosis primer dan tuberkulosis post-primer/sekunder (reaktivasi TB). Tuberkulosis primer biasanya terjadi pada individu dengan kekebalan yang tidak mencukupi untuk mengendalikan dan membatasi *M. tuberculosis* dalam granuloma. Granuloma tuberkulosis tersusun atas massa yang berisi makrofag yang berdiferensiasi menjadi sel *multinucleated giant*, sel epiteloid dan makrofag berisi droplet lipid dan neutrofil. Sel kemudian terselubungi oleh limfosit, yang terdiri dari sel T CD4+, sel T CD8+ dan sel B serta fibroblast yang membentuk kapsul fibrosis perifer<sup>32</sup>. Lesi tersebut menyebabkan berbagai kerusakan pada paru-paru serta memfasilitasi penyebaran bakteri menghasilkan spektrum klinis yang luas seperti meningitis, TB dengan *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS), tuberkulosis milier, dan granuloma ekstra pulmonari. Biasanya, ini mempengaruhi individu yang sangat muda dan sangat tua, populasi dengan imunologis yang tidak adekuat dan mengalami immunosupresi. Namun pada *host* imunokompeten TB primer memberikan perlindungan dengan menghasilkan kekebalan sistemik efektif yang mampu untuk mengendalikan dan menghentikan penyebaran infeksi. Infeksi tersebut terkendali dengan baik dalam beberapa minggu dan lesi menjadi pulih.<sup>33</sup> TB primer dalam perjalanan lebih lanjut akan mengalami salah satu dari hal berikut:

1. Sembuh dengan tidak meninggalkan cacat sama sekali (lebih dari 90%).
2. Sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas (garis fibrotik atau perkapuran di hilus).
3. Menyebar dengan cara per-kontinuitatum (melalui jaringan sekitarnya), bronkogen, hematogen dan limfogen. Penyebaran ini berkaitan dengan daya tahan tubuh, jumlah dan virulensi kuman.<sup>5</sup>

Tuberkulosis post-primer/sekunder (reaktivasi TB) biasanya dimulai hanya setelah pembentukan kekebalan sistemik dalam TB primer. TB post-primer, dapat menghindari dan mengganggu respons imun sistemik, menyebabkan pembentukan

kavitas yang memungkinkan replikasi dan pelepasan mikobakteria ke lingkungan. Ini merupakan konsekuensi dari hipersensitivitas terhadap antigen *M. tuberculosis*.<sup>34</sup> Individu dengan TB laten berisiko berkembang menjadi TB reaktivasi bertahun-tahun setelah infeksi, yang berperan sebagai reservoir potensial untuk penularan TB.<sup>35</sup> Infeksi HIV adalah faktor risiko tunggal paling menonjol yang dikaitkan dengan reaktivasi TB dari TB laten menjadi TB aktif karena menurunnya jumlah sel T CD4+ dan menyebabkan kelainan fungsional pada sel T CD4+ dan sel T CD8+ yang memberikan perlindungan terhadap TB aktif. Faktor risiko lain yang mencetuskan reaktivasi TB termasuk penuaan, kekurangan gizi, dan kondisi medis yang mendasari yang mengganggu sistem kekebalan tubuh seperti diabetes melitus, gagal ginjal, kanker, dan terapi immunosupresif.<sup>36</sup>

#### **2.1.5. Peran Sitokin dalam Infeksi TB**

Bakteri *M. tuberculosis* (M.tb) masuk ke alveolus paru melalui droplet aerosol dan menyerang sel epitel pernapasan, pneumosit alveolar tipe II, makrofag alveolar, sel dendritik dan neutrofil. Pneumosit alveolar tipe II dan sel epitel pernapasan yang kontak dengan *M. tuberculosis* berkontribusi terhadap mekanisme pertahanan awal host melalui pelepasan sitokin, kemokin dan molekul lainnya yang secara langsung membunuh *M. tuberculosis* atau makrofag yang terinfeksi.<sup>37,38</sup>

Peran sitokin dalam perlindungan host terhadap infeksi *M. tuberculosis* pertama kali ditunjukkan dalam model tikus percobaan yang menunjukkan peran penting IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  dan IL-12 dalam mengendalikan infeksi TB.<sup>39</sup> Mekanisme yang mendasari peran sitokin-sitokin ini kemudian dijelaskan sebagai aksis IL-12/IFN- $\gamma$ , dimana IL-12 yang diproduksi pada tahap awal infeksi oleh APC (*Antigen-Presenting Cells*), mendorong diferensiasi sel T helper 1 (Th1) CD4+ dan produksi IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  lebih lanjut mengaktifkan makrofag untuk menghasilkan TNF- $\alpha$  dan sitokin protektif lainnya, mempromosikan pembunuhan intraseluler patogen melalui produksi spesies oksigen dan nitrogen reaktif.<sup>40</sup>

Tabel 2.1. Sitokin-Sitokin yang Diproduksi selama Infeksi Mtb<sup>41</sup>

Sitokin	Penghasil utama	Target/peran
IL-12	Sel dendritik	Polarisasi Th1
IL-23	Sel dendritik, makrofag	Polarisasi Th1 dan Th17
IL-27	Sel dendritik	Polarisasi Th1
IFN- $\beta$	Sel dendritik	Aktivitas anti-bakteri, stimulasi sel NK, Polarisasi Th1
TNF- $\alpha$	Sel epitel pernapasan, pneumosit alveolar tipe II, Sel NK, makrofag alveolar, sel dendritik, neutrofil, CD4 <sup>+</sup> (Th1) dan sel T CD8 <sup>+</sup>	Faktor pro-inflamasi, menginduksi kemokin, aktivasi makrofag dan pembentukan granuloma
IL-1 $\beta$	Makrofag, sel dendritik	Pro-inflamasi, menarik dan mengaktivasi sel fagositik, polarisasi Th1
IL-18	Makrofag, sel dendritik	Pro-inflamasi, aktivasi sel NK, menstimulasi sekresi IFN- $\gamma$ dari sel Th1
IL-6	Makrofag, sel dendritik	Pro-inflamasi, polarisasi Th1
TGF- $\beta$	Makrofag, sel dendritik, sel Treg	Anti-inflamasi
IL-10	Neutrofil, makrofag, sel dendritik, sel Treg	Anti-inflamasi
IFN- $\gamma$	Sel epitel pernapasan, pneumosit alveolar tipe II, Sel NK, CD4 <sup>+</sup> (Th1), CD8 <sup>+</sup> , sel T $\gamma/\delta$ , sel T restriksi CD-1	Aktivasi makrofag, menginduksi sintesis NO dan membunuh bakteri
IL-17	Sel T CD4 <sup>+</sup> (Th17), sel T $\gamma/\delta$	Pro-inflamasi, menarik neutrofil, aktivasi makrofag
IL-22	Sel T CD4 <sup>+</sup> (Th17; Th22), sel NK	Pro-inflamasi

### 2.1.6. Diagnosis

Dalam menegakkan diagnosis TB paru dapat dilakukan beberapa cara, yaitu: anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan laboratorium seperti darah rutin (LED, monosit, limfositosis), pemeriksaan sputum Basil tahan Asam (BTA), pemeriksaan kultur yang merupakan *gold standard* dalam mendiagnosis TB, tes cepat molekuler (TCM) atau *genXpert assay*, Uji tuberkulin (*mantoux test*), *polymerase chain reaction (PCR)* TB, Uji serologi: *Enzyme linked immune-*

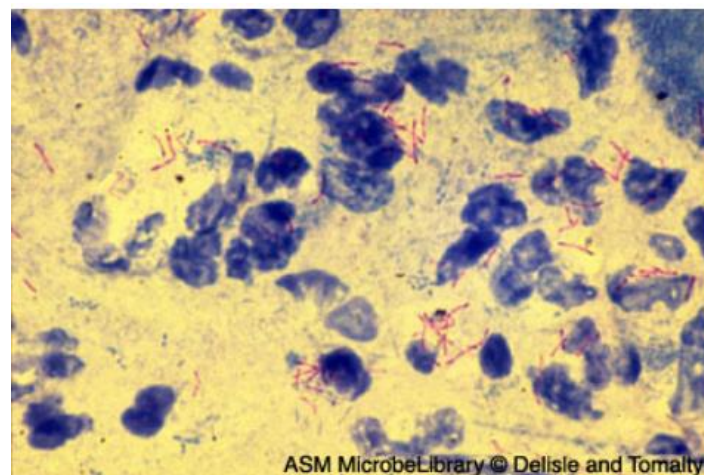
*absorbent assay* (ELISA), *mycodot*, *peroksidase anti peroksidase* (PAP) dan uji serologi yang baru (IgG TB dan uji ICT), *Becton Dickinson Diagnostic Instrument System* (BACTEC), pemeriksaan antigen lipoarabinomannan (LAM), ELISA *urinary antigen test* dan diagnosis TB ditegakkan berdasarkan terdapat paling sedikit satu spesimen konfirmasi *Mycobacterium tuberculosis* atau sesuai dengan gambaran histologi tuberkulosis atau bukti klinis dan radiologis sesuai tuberkulosis.<sup>42</sup>

### 1. Pemeriksaan Mikroskopik

Diagnosis bakteriologis tuberkulosis yang paling umum dilakukan adalah pemeriksaan spesimen dahak (pemeriksaan BTA, isolasi kultur, metode molekuler, dan lain-lain). Spesimen lainnya termasuk berbagai cairan tubuh seperti cairan pleura, cairan serebrospinal, cairan sendi, darah, kelenjar getah bening, dan spesimen biopsi lainnya. Pemeriksaan sputum BTA adalah metode yang paling banyak digunakan untuk diagnosis tuberkulosis paru yaitu dengan metode pewarnaan *Ziehl-Neelsen* dan diamati dengan mikroskop cahaya.<sup>43</sup>

#### a. Pewarnaan *Ziehl-Neelsen*

Kuman difiksasi pada gelas alas, kemudian dituangkan karbol fuchsin. Lalu dipanaskan hingga keluar uap selama 5 menit. Setelah itu dicuci dengan air, lalu diberi alkohol asam 3% selama 5 menit. Bilas dengan air, lalu diberi metilen blue 0,5% selama 1-2 menit dan dikeringkan.



Gambar 2.3. *M. tuberculosis* pada Pewarnaan *Ziehl-Neelsen*<sup>44</sup>

**b. *Tan Thiam Hok (Kinyoun-Gabbett)***

Kuman difiksasi pada gelas alas, kemudian diberi larutan Kinyoun selama 3 menit, lalu cuci dengan air. Kemudian larutan Gabbet selama 1 menit, cuci dengan air dan dikeringkan.

**c. *Auramin-Phenol Fluorochrome***

Kuman difiksasi pada gelas alas, lalu diberi larutan Auramin phenol selama 10 menit, cuci dengan air. Kemudian dengan asam 42system42 1% selama 5 menit. Selanjutnya dengan KmnO<sub>4</sub> selama 10 detik, cuci dengan air dan dikeringkan.

Interpretasi pemeriksaan mikroskopis dibaca dengan skala IUATLD (rekomendasi WHO). Skala IUATLD (*International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*) yaitu sebagai berikut:<sup>45</sup>

- Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang, disebut negatif.
- Ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang, ditulis jumlah basil yang ditemukan.
- Ditemukan 10-99 BTA dalam 100 lapang pandang disebut + (1+).
- Ditemukan 1-10 BTA dalam 1 lapang pandang, disebut ++ (2+).
- Ditemukan >10 BTA dalam 1 lapang pandang, disebut +++ (3+).

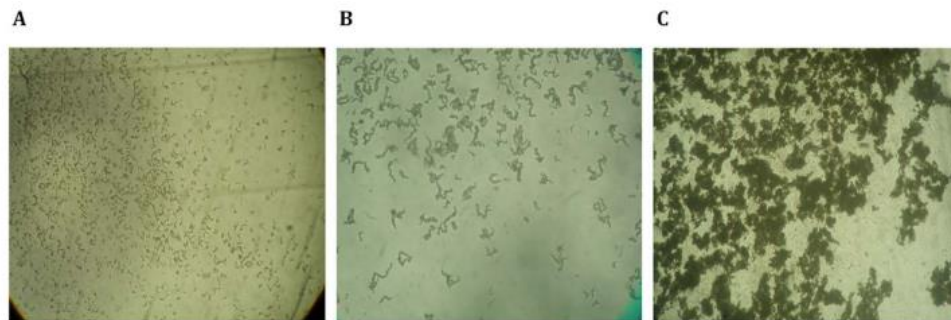
**2. Pemeriksaan Metode Kultur**

Pemeriksaan biakan bakteri atau kultur merupakan baku emas (*gold standard*) dalam mengidentifikasi *M. tuberculosis*. Biakan bakteri untuk kepentingan klinis umum dilakukan menggunakan dua jenis medium biakan, yaitu:

**a. *Media Padat (Lowenstein-Jensen)***

Media *Lowenstein-Jensen* adalah media padat berbasis telur. Media ini pertama kali dibuat oleh Lowenstein dan kemudian dikembangkan oleh Jensen sekitar tahun 1930-an. Hingga sekarang media ini terus dikembangkan oleh peneliti lain seperti Ogawa, Kudoh, Gruft, Wayne, dan Doubek. Media *Lowenstein-Jensen* digunakan untuk isolasi dan pembiakan spesies *Mycobacteria*. Pemeriksaan identifikasi *M.*

*tuberculosis* menggunakan media *Lowenstein-Jensen* ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dan digunakan sebagai alat diagnostik dalam program penanggulangan tuberkulosis.<sup>5,46</sup>



Gambar 2.4. Karakteristik Morfologi *M. tuberculosis* pada Media Kultur<sup>47</sup>

#### b. Media Cair (*Mycobacteria Growth Indicator Tube/MGIT*)

*Mycobacteria Growth Indicator Tube* (MGIT) menggunakan sensor fluoresen yang ditanam dalam bahan dasar silikon sebagai indikator pertumbuhan mikobakterium. Tabung ini mengandung 4 ml kaldu 7H9 Middlebrook yang ditambahkan 0,5 ml suplemen nutrisi dan 0,1 ml campuran antibiotik untuk menekan pertumbuhan basil kontaminan. Mikobakterium yang tumbuh akan mengkonsumsi oksigen sehingga sensor akan menyala. Sensor tersebut dapat dilihat menggunakan lampu ultraviolet dengan panjang gelombang 365 nm. Dari berbagai sumber, ditemukan bahwa rata-rata waktu yang dibutuhkan untuk mendeteksi pertumbuhan basil dengan metode MGIT adalah 21,2 hari (kisaran 4-53 hari), sedangkan metode konvensional Lowenstein-Jensen membutuhkan rata-rata waktu 40,4 hari (kisaran 30-56 hari).<sup>5,46</sup>

### 3. Pemeriksaan *Resazurin Microtiter Assay* (REMA)

Pemeriksaan mikrobiologik untuk konfirmasi TB *multi drug resistant* (MDR) yang sedang dikembangkan beberapa tahun terakhir ini adalah metode kolorimetrik. Metode kolorimetri untuk uji kepekaan obat memberikan hasil

yang lebih cepat dibandingkan metode kultur standard dan lebih murah dibandingkan metode molekuler. Salah satu metode kolorimetrik yang sedang dikembangkan adalah *Resazurin Microtiter Assay* (REMA), yang bergantung pada reaksi oksidasi-reduksi untuk menghasilkan perubahan warna dari biru menjadi merah muda jika terdapat bakteri hidup. Metode ini telah direkomendasikan oleh WHO dalam menilai kepekaan obat terhadap *M. tuberculosis*.<sup>48</sup> Hasil pengujian kerentanan OAT secara kolorimetri dapat memberikan hasil secara cepat yaitu pada hari ke 8 dan juga menggunakan biaya yang relatif lebih murah dengan pengerjaan yang lebih sederhana.<sup>49</sup> Prinsip kerja metode ini yaitu:<sup>50</sup>

**a. Medium Cair**

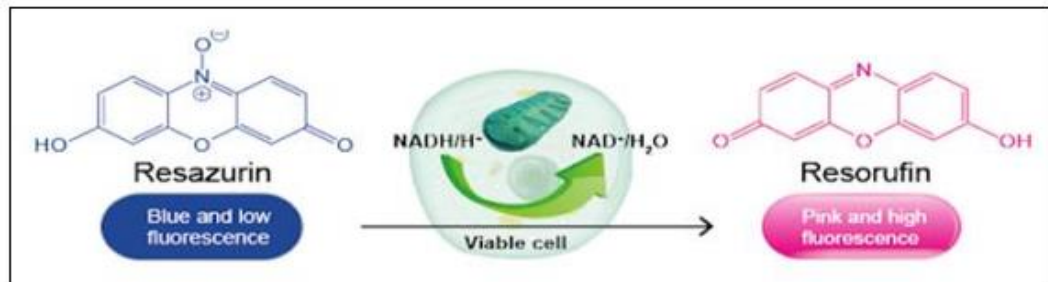
Sampel sputum atau kultur MTB ditempatkan dalam medium cair *Middlebrook 7H9* yang sudah dicampur dengan inhibitor antibakteri seperti isoniazid (INH) dan rifampisin (Rif). Medium ini dirancang untuk memfasilitasi pertumbuhan MTB, tetapi dengan tambahan inhibitor, medium ini dapat mendeteksi apakah MTB terekspos pada dosis OAT tertentu.

**b. Indikator Redox**

Setelah inkubasi selama 7 hari, indikator redoks bernama resazurin ditambahkan ke dalam medium. Indikator ini awalnya berwarna biru, tetapi ketika MTB mulai berkembang dan menggunakan oksigen dalam senyawa resazurin, warnanya akan berubah menjadi merah muda.

Interpretasi hasil:

1. Hasil Positif: Jika medium berubah warna dari biru menjadi merah muda setelah inkubasi, maka MTB masih peka terhadap OAT
2. Hasil Negatif: Jika tidak ada perubahan warna, maka MTB resisten terhadap OAT



Gambar 2.5. Prinsip Kerja *Resazurin Microtiter Assay* (REMA)<sup>51</sup>

#### 4. Pemeriksaan Tuberkulin

Pemeriksaan tuberkulin (*Mantoux*) merupakan salah satu jenis uji yang digunakan untuk mendiagnosis tuberkulosis laten dan untuk mengetahui orang yang terinfeksi dengan kuman tuberkulosis tetapi belum mengidap penyakit yang aktif. Uji ini merupakan metode standar untuk mendeteksi tuberkulosis laten, hasil uji tuberkulosis dikatakan positif apabila indurasi yang terbentuk >10 mm.<sup>52</sup>

Uji ini merupakan salah satu dasar kenyataan bahwa infeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis* akan menyebabkan reaksi *delayed-type hypersensitivity* terhadap komponen antigen yang berasal dari ekstrak *Mycobacterium tuberculosis* atau tuberkulin. Tuberkulin merupakan komponen protein kuman Mtb yang mempunyai sifat tuberkulosis yang kuat. Uji tuberkulin merupakan alat diagnosis tuberkulosis yang sudah lama dikenal, tetapi hingga saat ini masih memiliki nilai diagnostik yang tinggi. Uji ini dilakukan berdasar adanya hipersensitivitas tubuh akibat adanya infeksi *Mycobacterium tuberculosis* terutama pada anak dengan sensitivitas dan spesifisitas di atas 90%.<sup>53</sup>

#### 5. Pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM)

Tes Cepat Molekuler (TCM) *GeneXpert* merupakan pemeriksaan molekuler dengan menggunakan *catridge* berdasarkan *Nucleic Acid Amplification Test* (NAAT) yang secara otomatis diperoleh hasil dalam kurun waktu kurang lebih 2 jam. Pemeriksaan *GeneXpert* untuk diagnosis TB

menggunakan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction Assay* (RT-PCR) secara otomatis mendeteksi *M. tuberculosis* dan mendeteksi resistensi terhadap rifampisin.<sup>54</sup> Pemeriksaan *GeneXpert* memiliki kekurangan dan kelebihan. Banyak keuntungan dari pemeriksaan menggunakan *GeneXpert* yaitu: pelatihan sederhana untuk menggunakan alat, waktu pemeriksaan yang cepat kurang lebih 2 jam, dapat digunakan sebagai alat skrining diagnosis TB dan penanganan cepat dokter dengan pemberian obat sesuai dengan diagnosis. Kekurangan dari alat ini yaitu biaya yang dikeluarkan lebih mahal dari pemeriksaan pewarnaan BTA.<sup>55</sup>

## 6. Pemeriksaan *Interferon-Gamma Release Assay* (IGRA)

Pemeriksaan IGRA adalah uji *in vitro* dengan menggunakan sampel darah lengkap yang digunakan untuk mengukur produksi interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) sebagai respon spesifik terhadap antigen *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro* selama 16-24 jam. Dibanding tes tuberkulin, IGRA lebih spesifik pada populasi yang tinggi angka vaksinasi BCG. Akan tetapi, tes tuberkulin maupun IGRA tidak dapat digunakan untuk membedakan TB Laten dengan TB aktif.<sup>56</sup>

Prinsip IGRA adalah ketika sel T individu yang terinfeksi TB dirangsang kembali dengan antigen *Mycobacterium tuberculosis*, sel T melepaskan sitokin IFN- $\gamma$ . IGRA positif menunjukkan adanya antibodi spesifik dalam tubuh pasien yang sistem kekebalannya telah terpapar TB, dan kadar IFN- $\gamma$  spesifik *Mycobacterium tuberculosis* yang dihasilkan telah mencapai ambang hasil IGRA positif. Hasil positif dapat menunjukkan adanya bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, baik dalam status aktif maupun dorman.<sup>57</sup>

### 2.1.7. Tatalaksana

Pengobatan tuberkulosis dibagi menjadi 2 tahap pengobatan, yaitu:<sup>58</sup>

#### a. Tahap Intensif

Pada tahap intensif berlangsung selama 2-3 bulan. Penderita mendapatkan obat setiap hari dan diawasi langsung untuk mencegah terjadinya kekebalan untuk semua OAT, terutama Rifampisin. Bila pengobatan tahap intensif

tersebut diberikan secara tepat, biasanya infeksi menjadi tidak menular dalam kurun waktu 2 minggu. Sebagian besar penderita tuberkulosis BTA positif menjadi BTA negatif (konversi) pada akhir pengobatan intensif. Pengawasan ketat dalam tahan intensif sangat penting untuk mencegah terjadinya kekebalan obat.

Pada fase intensif pasien diberikan kombinasi 4 obat berupa Rifampisin, Isoniazid, Pirazinamid, dan Etambutol selama 2 bulan dilanjutkan dengan pemberian Isoniazid dan Rifampisin selama 4 bulan pada fase lanjutan. Pemberian obat fase lanjutan diberikan sebagai dosis harian sesuai dengan rekomendasi WHO.<sup>5</sup>

#### **b. Tahap Lanjutan**

Tahap ini berlangsung selama 4-7 bulan. Pada tahap lanjutan penderita mendapat jenis obat lebih sedikit, namun dalam jangka waktu yang lebih lama. Tahap lanjutan penting untuk membunuh kuman persisten (dormant) sehingga mencegah terjadinya kekambuhan. Panduan obat yang digunakan terdiri dari obat utama dan obat tambahan. Jenis obat utama yang digunakan sesuai dengan rekomen dari WHO adalah Rifampisin, INH, Pirazinamid, Streptomisin dan Etambutol.

### **2.1.8. Obat Anti Tuberkulosis**

#### **a. Isoniazid**

Isoniazid (INH) merupakan devirat asam isonikotinat yang berkhasiat untuk obat tuberkulosis yang paling kuat terhadap *Mycobacterium tuberculosis* (dalam fase istirahat) dan bersifat bakterisid terhadap basil yang tumbuh pesat. Mekanisme kerja utama dari isoniazid adalah dengan berfokus pada pembentukan berbagai senyawa reaktif yaitu *reactive oxygen species* (ROS). Setelah isoniazid beredar dalam aliran darah, isoniazid akan berdifusi secara pasif masuk ke dalam tubuh bakteri, dimana bentuk tidak aktif dari isoniazid akan diaktifkan oleh MnCl<sub>2</sub> dan enzim katalase-peroksidase. Enzim ini juga berfungsi untuk melawan kadar pH rendah ketika terjadi proses oksidatif yang mengubah radikal bebas oksigen menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> di dalam fagosom. Proses ini

juga mengubah isoniazid menjadi bentuk aktifnya, dimana bentuk aktifnya ini akan berikatan dengan NADH di sisi aktif protein InhA. Kompleks ini akan menghambat elongasi dari rantai terakhir asam lemak dan karenanya pembentukan asam mikolat dan dinding sel pun terhambat, sehingga juga menyebabkan deoksiribonucleotida acid (DNA) bakteri rusak, dan kemudian bakteri tersebut akan mati. Efek samping dari INH adalah neuropati perifer, reaksi hipersensitivitas seperti hepatitis, dermatitis, demam dan anemia hemolitik<sup>59,60</sup>

**b. Rifampisin**

Rifampisin adalah antibiotik lipofilik berspektrum luas. Rifampisin dapat dengan mudah berdifusi masuk menyebrangi membran sel karena karakteristik lipofiliknya. Aktivitas bakterisidal obat ini bergantung pada kemampuan obat ini untuk menghambat transkripsi *ribonucleotide acid* (RNA). Mekanisme kerja obat ini adalah dengan berikatan pada beta subunit dari RNA Polimerase (RNAP) yang bergantung pada DNA sehingga menghambat transkripsi RNA. Komplek ikatan enzim dan obat ini menghambat inisiasi pembentukan rantai RNA dan juga elongasinya. Efek samping dari rifampisin adalah gangguan saluran cerna, terjadi gangguan sindrom influenza, gangguan respirasi, warna kemerahan pada urine, dan edem.<sup>60,61</sup> Selain itu, Rifampisin merupakan induktor sitokrom CYP3A4 yang terkenal dan sering digunakan sebagai kontrol positif untuk mengevaluasi potensi induksi CYP3A4 dari senyawa uji dalam penelitian, menetapkan ambang batas terhadap respon positif induksi mRNA CYP3A4 secara *in vitro* dan meningkatkan interpretasi data *in vitro* untuk memprediksi interaksi berbagai jenis obat.<sup>62,63</sup>

**c. Pirazinamid**

Pirazinamid adalah analog nikotamid yang membunuh 95% populasi dari mikroorganisme semi dormant yang hanya aktif pada suasana asam dan bersifat bakteriostatik. Pirazinamid dalam bentuk *prodrug* akan dikonversi menjadi asam pirazinoat oleh enzim piramidase bakteri. Asam pirazinoat dan analognya 5-kloro-pirazinamid dapat menghambat sintesis asam lemak dari bakteri. Pirazinamid mengganggu lalu lintas energi dan transport di membran bakteri.

Akumulasi dari asam pirazinoat di dalam kondisi asam akan mengasamkan sitoplasma dan merusak sel bakteri. Efek samping dari pirazinamid adalah anoreksia, ikterus, anemia, mual, muntah, dan gagal hati.<sup>64,65</sup>

**d. Streptomisin**

Streptomisin adalah antibiotik yang dihasilkan oleh jamur tanah disebut *Streptomyces griseus* yang dapat digunakan untuk mengatasi sejumlah infeksi seperti tuberkulosis untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Streptomisin adalah aminoglikosida yang aktif melawan basil aktif yang sedang tumbuh. Cara kerja dari antibiotik ini adalah dengan menghambat inisiasi dari translasi untuk sintesis protein. Lebih spesifik, streptomisin bekerja dengan mengikat subunit 30S dari ribosom pada protein ribosomal S12 dan rantai rRNA 16 yang dikode gen rpsL dan rrs. Kedua kode gen yang sering menimbulkan resistensi. Ikatan streptomisin inilah yang kemudian menghambat pembentukan polipeptida sehingga proses translasi pun terhambat. Efek samping dari streptomisin adalah gangguan fungsi ginjal, gangguan pendengaran, dan kemerahan pada kulit.<sup>66</sup>

**e. Etambutol**

Etambutol adalah agen *antimycobacterial* yang termasuk dalam *ethylaminobutan*. Etambutol efektif bekerja melawan *Mycobacterium tuberculosis* tetapi tidak efektif melawan jamur, virus, dan bakteri lain. Mekanisme kerja dari etambutol adalah menghambat sintesis metabolit penting dari metabolisme sel dan multiplikasi bakteri dengan menghambat pembentukan asam mikolat dan dinding sel. Penghambatan sintesis dinding sel dilakukan dengan menghambat *arabinosyl transferase* yang terlibat dalam sintesis dinding sel. Hal ini kemudian mengakibatkan permeabilitas dinding sel bakteri meningkat. Efek samping penurunan tajam penglihatan pada kedua mata, penurunan terhadap kontras sensitivitas warna serta gangguan lapang pandang.<sup>67</sup>

## 2.2. Daun Kemangi

Genus *Ocimum* terdiri lebih dari 150 spesies yang tumbuh secara luas dan terdistribusi di berbagai regio di dunia. Beberapa jenis daun kemangi yaitu *Ocimum basilicum*, *Ocimum gratissimum* dan *Ocimum sanctum*. *Ocimum basilicum* adalah jenis yang paling banyak ditemukan di Indonesia, Mexico dan Afrika.<sup>68</sup> Genus *Ocimum* termasuk dalam famili *Lamiaceae*. Genus *Ocimum* memiliki sejumlah spesies yang digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit sejak zaman kuno, terutama spesies *Ocimum basilicum*, yang juga dikenal sebagai basil manis. Ini adalah tanaman herba tahunan yang secara universal dibudidayakan serta merupakan herbal populer yang digunakan dalam masakan Italia dan Asia Tenggara.<sup>69</sup>



Gambar 2.6. Daun Kemangi<sup>70</sup>

### 2.2.1. Kategori Hierarki Taksonomi Daun Kemangi

Hierarki Taksonomi daun kemangi (*Ocimum basilicum*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Tubiflorae
Family	: Lamiaceae
Genus	: <i>Ocimum</i>
Species	: <i>Ocimum basilicum</i>

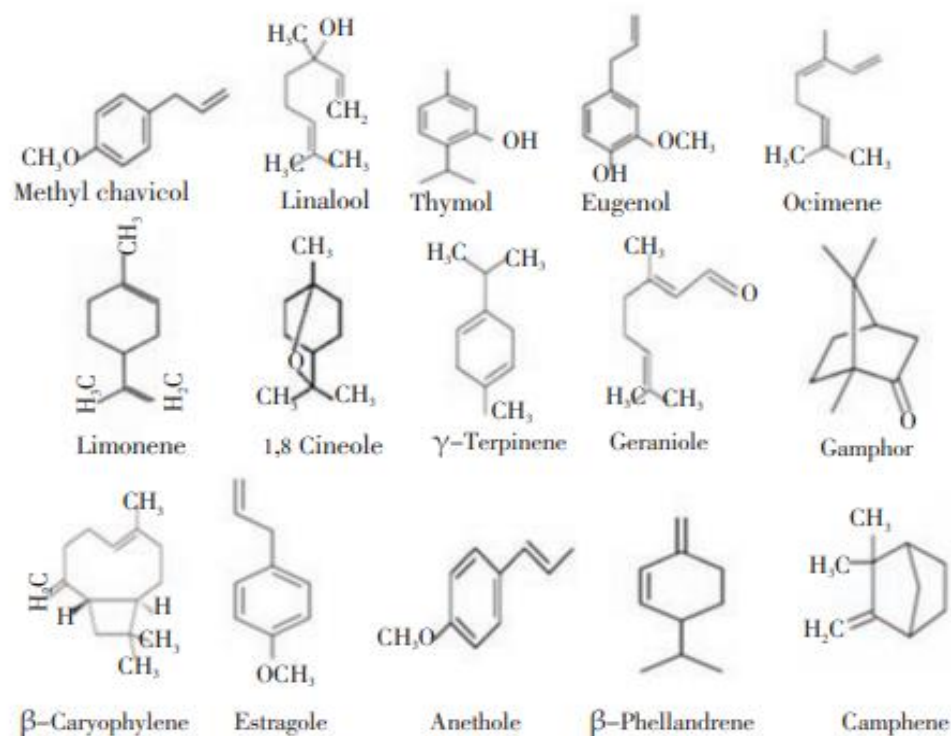
### 2.2.2. Karakteristik

Daun kemangi merupakan tanaman yang tumbuh di daerah tropis yang memiliki ketinggian 0,3-1,5 m. Tanaman ini termasuk dalam famili Lamiaceae dengan akar tunggang, berwarna putih kusam dan mempunyai ciri-ciri berbatang 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 sangat khas. Daunnya memiliki bentuk bulat sampai oval. Buah kemangi berbentuk kotak dengan warna coklat tua. Panjang kelopak buah sekitar 6-9 mm, bijinya memiliki ukuran yang kecil, keras dan berwarna coklat tua.<sup>71</sup>

### 2.2.3. Fitokimia

Daun kemangi terutama mengandung sekitar 20 senyawa seperti *linalool*, *estragole*, *methyl eugenol*, *1,8-cineole*, dan lain-lain, yang telah diidentifikasi melalui GC-MS. *Kamper*, *limonene*, *thymol*, *citral*,  *$\alpha$ -linalool*,  *$\beta$ -linalool*, *estragole*, adalah *monoterpen* dari daun kemangi. *Methyl eugenol* adalah senyawa aktif dari daun kemangi.<sup>72</sup>

Analisis kromatografi dari daun kemangi menunjukkan total empat puluh sembilan bahan yang menyumbang 98,8% dari total komposisi tanaman. *Methyl chavicol* adalah bahan utama (74,9%) diikuti oleh  *$\alpha$ -bisabolene* (1,1%) dan *linalool* (18,4%). Menurut beberapa penelitian, komposisi minyak esensial dari tanaman ini adalah *linalool* (12,63%), *eucalyptol* (1,79%), *eugenol* (19,22%),  *$\alpha$ -bergamotene* (3,96%), *germacrene D* (8,55%),  *$\alpha$ -terpineol* (0,95%),  *$\alpha$ -guaiene* (2,33%), *kamper* (0,70%),  *$\beta$ -elemene* (2,68%), *tau-cadinol* (15,13%),  *$\beta$ -caryophyllene* (0,61%),  *$\alpha$ -copaene* (0,33%), *cubenol* (1,78%), *bornil acetate* (1,97%), *elixen* (2,59%), *methyl eugenol* (0,76%), *epibicyclosiquiphelandrene* (0,76%),  *$\delta$ -gurjunene* (5,49%),  *$\beta$ -farnesene* (0,58%),  *$\alpha$ -caryophyllene* (1,67%),  *$\beta$ -cadinene* (0,80%),  *$\alpha$ -bisabolol* (0,35%), *tau muralol* (0,96%), dan  *$\delta$ -cadinene* (5,04%).<sup>73</sup>



Gambar 2.7. Struktur Kimia Daun Kemangi<sup>74</sup>

#### 2.2.4. Aktivitas Farmakologi

Senyawa turunan hidrokarbon atau fenol dari minyak atsiri daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri poten yang terdiri dari 1,8-cineole,  $\beta$ -bisabolene, methyl eugenol. Ketiga bahan tersebut memiliki sifat larut terhadap etanol dan dapat menyebabkan kerusakan membran sel bakteri. Senyawa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler.<sup>75</sup> Selain itu flavonoid juga melawan radikal bebas hidroksil, anion superoksida, dan radikal peroksi lemak. Mekanisme ini meliputi penghambatan sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, metabolisme energi, penghambatan

perlekatan dan pembentukan biofilm, penghambatan porin pada membran sel, serta perubahan permeabilitas membran.<sup>76</sup>

Sebuah penelitian melaporkan bahwa pemberian flavonoid secara signifikan menurunkan kelangsungan hidup Mtb intraseluler, meningkatkan kepadatan sel, agregasi, dan pembentukan granuloma, serta meningkatkan kadar glutathione. Kadar IL-12 dan IFN cenderung lebih tinggi, sementara IL-10 lebih rendah ketika makrofag Th 1 dan granuloma terinfeksi Mtb dari subjek yang diberikan perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.<sup>77</sup>

Senyawa tanin juga memiliki peran untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen, jika terbentuk ikatan hidrogen antara tanin dengan protein maka protein akan terdenaturasi sehingga metabolisme bakteri menjadi terganggu.<sup>78</sup> Senyawa saponin memiliki aglikogen berupa steroid dan triterpenoid. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu melalui penghambatan sintesis protein dan enzim dalam sel bakteri yang berdifusi melalui membran luar dan dinding sel kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.<sup>78</sup>

Senyawa alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga dinding sel terbentuk tidak sempurna dan cenderung menyebabkan kematian sel. Selain itu, alkaloid menghambat sintesis DNA dengan cara menghambat enzim topoisomerase pada sel bakteri. Alkaloid menunjukkan aktivitas antibakteri sekaligus menghambat transportasi senyawa ATP yang bergantung pada membran sel.<sup>76</sup>

Di Indonesia tanaman daun kemangi banyak digunakan di pulau-pulau besar, seperti Sulawesi, Sumatera, dan Kalimantan. Suku di Kolaka yaitu Kolaka Timur, Sulawesi Tenggara, menggunakan daun kemangi untuk membantu pengobatan tuberkulosis.<sup>13</sup> Suku sub-etnis Dayak seperti suku Dayak Linoh yang tinggal di Kabupaten Sintang, Kalimantan Barat, memanfaatkan daun, bunga, dan buah untuk mengurangi bau badan dan demam. Kelompok sub-etnis lain, Dayak Tamambaloh, di Kabupaten Kapuas Hulu, Kalimantan Barat, menggunakan daun kemangi untuk mengobati kurap, lepuh, dan mengurangi bau badan.<sup>79</sup>

Daun kemangi digunakan untuk mengatasi gangguan paru-paru dan sesak napas di Iran; asma di Kamerun; bronkitis, batuk, dan asma di India; penyakit paru-paru akut, termasuk bronkitis, batuk, dan sakit tenggorokan, di Brazil, serta tuberkulosis dan penyakit paru-paru akut seperti bronkitis di Ethiopia.<sup>80</sup> Minyak esensial, ekstrak metanol dan fraksi dari tanaman ini telah dieksplorasi beberapa tahun terakhir dalam aktivitas anti-bakteri melawan bakteri gram positif dan gram negatif. Bukti aktivitas anti-bakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif ditunjukkan pada konsentrasi hambat minimum.<sup>81,82</sup>

Kandungan minyak esensial yang diekstraksi dari daun kemangi Afrika dapat merusak membran sel mikroba, meningkatkan pembentukan ROS yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada mikroba, merusak DNA mikroba beserta roda replikasinya, mendenaturasi protein-protein penting untuk kelangsungan hidup mikroba. Melalui metode hidrodilatasi dan dikarakterisasi menggunakan GC-MS, menunjukkan potensi antibakteri terhadap *S. aureus*, *S. enteritidis*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa*. Konsentrasi hambat minimum (MIC) berkisar antara 2 hingga 4 µg/mL, dan zona hambat berada di antara 5 hingga 10.<sup>83</sup>

Suatu penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kemangi memiliki potensi besar dalam aktivitas anti-bakteri terhadap *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *M. flavus*, dan *S. aureus*, dengan *minimum inhibitory concentration* (MIC) < 0,5 mg/mL dan *minimum bactericidal concentration* (MBC) < 0,9 mg/mL. Ekstrak metanol ini mengandung beberapa senyawa polifenol, seperti asam *3,4-dihydroxyphenylacetic* dan rutosida, yang terutama berkontribusi sebagai efek anti-bakteri.<sup>84</sup> Efek anti-bakteri dari senyawa polifenol berasal dari kemampuan untuk berinteraksi dengan dinding sel dan membran bakteri, mengganggu regulasi protein, menghambat enzim mikroba, dan menunjukkan kemampuan dalam kelasi besi.<sup>85</sup>

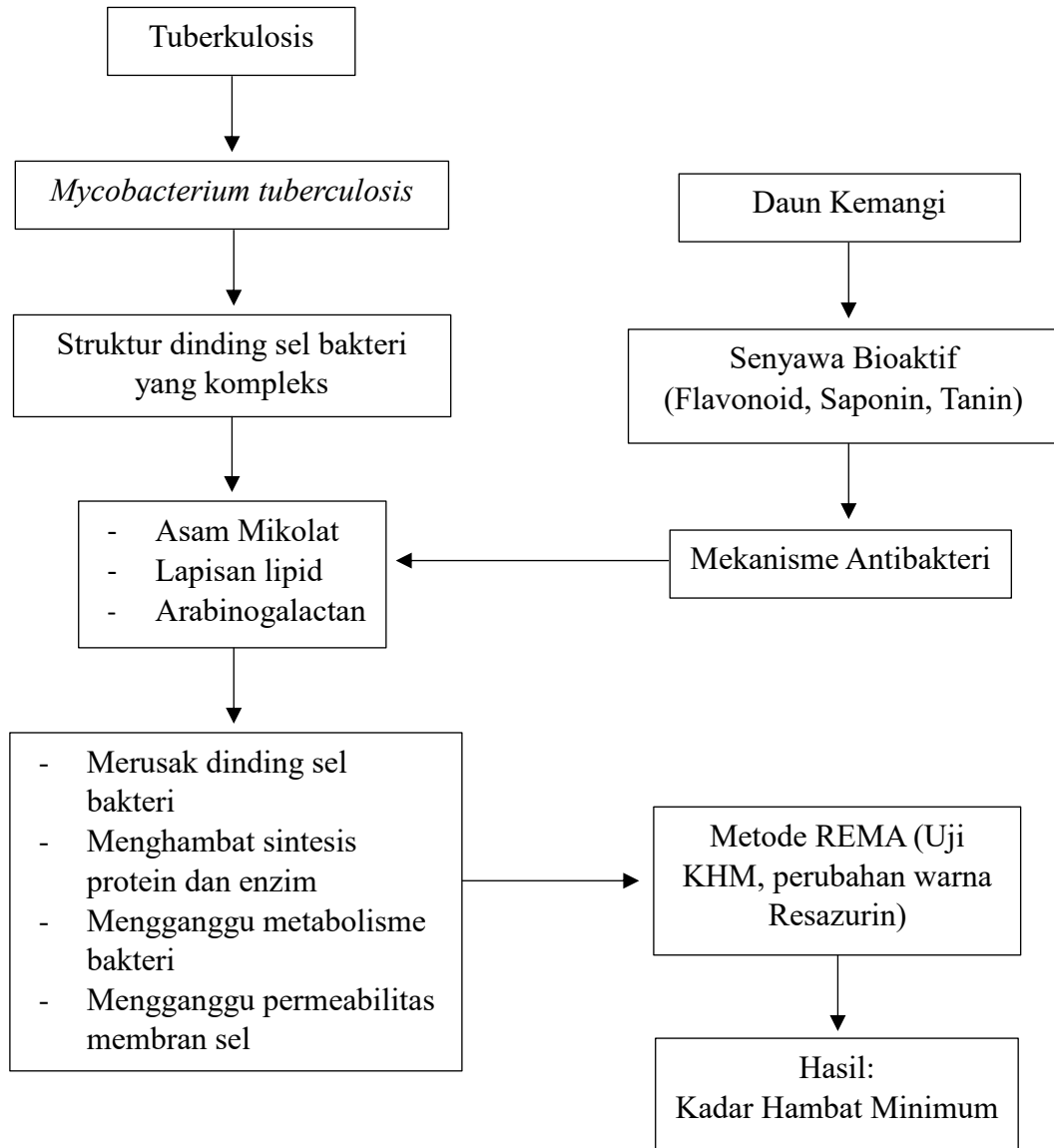
Ekstrak metanol 80% dari biji daun kemangi (75 µg/ml pelarut) menunjukkan aktivitas anti-*mycobacterium* yang menjanjikan terhadap strain *M. tuberculosis* dan *M. bovis*. Hal ini mungkin disebabkan oleh bahan bioaktif dalam daun kemangi seperti saponin, tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol yang ada dalam ekstrak tersebut.<sup>86</sup> Ekstrak etanolik kasar dari biji daun kemangi menunjukkan aktivitas

anti-mikobakteri terhadap *M. tuberculosis* dan *M. bovis*, dengan *minimum inhibitory concentration* (MIC) masing-masing berkisar antara 25-100 µg/ml dan 25-50 µg/ml.<sup>18</sup> Pada penelitian sebelumnya juga dilaporkan bahwa ekstrak methanol 80% daun kemangi memiliki aktivitas anti-mikobakterium terhadap *M. tuberculosis* dan *M. bovis* dengan MIC 6,25-100 µg/ml menggunakan metode REMA.<sup>19</sup>

Studi lainnya juga melaporkan bahwa ekstrak dari daun kemangi (6,25 µg/ml pelarut) dapat dijadikan sebagai pengobatan komplementer dalam memperbaiki gejala TB paru. Hasil studi ini mendukung penggunaan daun kemangi dalam etnomedis sebagai obat untuk gejala tuberkulosis dan tanaman ini mungkin menjadi kandidat potensial untuk studi fitokimia dan farmakologi lebih lanjut untuk memperoleh senyawa yang efektif melawan *M. tuberculosis*.<sup>14</sup>

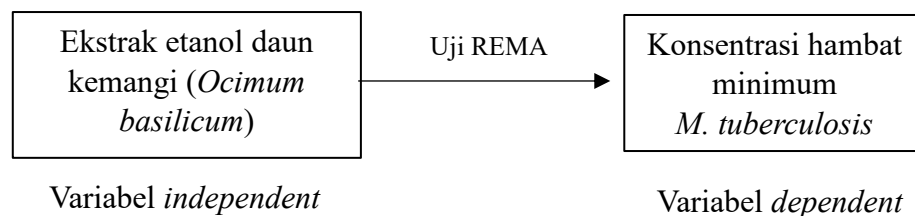
Ekstrak daun kemangi mengurangi ekspresi mRNA sitokin inflamasi yang diinduksi melalui *co-culture*, termasuk IL-1β (Il1b), IL-6 (Il6), TNF-α, dan CCL2, serta menekan ekspresi mRNA NF-κB (Nfkb1).<sup>87</sup> Pada model tikus, ekstrak daun kemangi dapat menurunkan jumlah total leukosit, persentase monosit, eosinofil, neutrofil, dan kadar penanda oksidan dibandingkan dengan tikus yang sensitif dan tidak diobati.<sup>88</sup> Dalam studi berbeda, aktivitas anti-inflamasi dari ekstrak daun kemangi menggunakan *peripheral blood mononuclear cells* (PBMC) individu yang sehat menunjukkan bahwa ekstrak metanol *O. basilicum* menghambat sitokin pro-inflamasi kunci seperti IL-1β, IL-2, TNF-α, dan mediator lainnya, yang menjelaskan efek anti-inflamasinya.<sup>89</sup>

### 2.3. Kerangka Teori



Gambar 2.7. Kerangka Teori

## 2.4. Kerangka Konsep



Gambar 2.8. Kerangka Konsep Penelitian

## 2.5. Hipotesis

- Ho: Ekstrak etanol daun kemangi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dinilai dengan konsentrasi hambat minimum melalui metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) secara *in-vitro*.
- Ha: Ekstrak etanol daun kemangi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dinilai dengan konsentrasi hambat minimum melalui metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) secara *in-vitro*.

## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
<b>Ekstrak etanol daun Kemangi</b>	Simplisia daun <i>O. basilicum</i> yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sampai didapatkan ekstrak etanol kentalnya	Gelas ukur dan pipet tetes	Ordinal	Dihasilkan ekstrak etanol daun kemangi yang terdiri dari konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625%.
<b>Konsentrasi hambat minimum</b>	Konsentrasi hambat terkecil yang dimiliki oleh ekstrak etanol daun kemangi dalam menghambat <i>M. tuberculosis</i> yang dilakukan melalui metode REMA	<i>Microplate Reader</i>	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Warna merah muda: terdapat pertumbuhan bakteri <i>M. tuberculosis</i></li> <li>• Warna biru: tidak terdapat pertumbuhan bakteri <i>M. tuberculosis</i></li> </ul>

### 3.2. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental secara *in vitro* dengan *non randomized post test only controlled group design*.

### 3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2024 sampai dengan April 2025 di laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran UMSU dan Laboratorium Mikrobiologi FK-KMK UGM.

### 3.4. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dan sampel penelitian adalah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv yang diperoleh dari persediaan bakteri di laboratorium mikrobiologi FK-KMK UGM. Sampel penelitian dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol negatif: terdiri dari kontrol bakteri *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv tanpa perlakuan.
- b. Kelompok kontrol positif: bakteri *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv yang diberikan Rifampisin dengan konsentrasi 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125% dan 0,0625%.<sup>90</sup>
- c. Kelompok perlakuan: bakteri *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv yang diberikan senyawa ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625%.

Total perlakuan dalam penelitian ini adalah 9 perlakuan. Dalam penelitian ini masing-masing perlakuan direpetisi dengan jumlah yang dapat ditentukan dari rumus berikut:<sup>91</sup>

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

Keterangan:

t: jumlah perlakuan

r: jumlah pengulangan

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

$$(9 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$8(r - 1) \geq 15$$

$$8r - 8 \geq 15$$

$$8r \geq 23$$

$$r \geq 2,875$$

$$r \geq 3$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, pengulangan yang dapat dilakukan dalam penelitian ini adalah tiga kali.

### **3.5. Variabel Penelitian**

#### **3.5.1. Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625%.

#### **3.5.2. Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian ini adalah konsentrasi hambat minimum *Mycobacterium tuberculosis* yang dianalisis dengan metode REMA.

### **3.6. Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.6.1. Alat**

- a. Timbangan
- b. Ose
- c. Blender
- d. Yellow tip
- e. Blue tip
- f. Mikropipet 50 – 200 ul
- g. Mikropipet 200 – 1000 ul
- h. Vortex
- i. Inkubator
- j. Microtube 1,5 ml
- k. Rak
- l. Ose
- m. Pipet ukur 10 ml
- n. Pipet ukur 1 ml
- o. Tabung screw cap + 10 glassbeads + 2 tetes Twen 0,05% steril
- p. *Microplate*

### 3.6.2. Bahan

- a. Daun kemangi (*Ocimum basilicum*)
- b. Etanol 96%
- c. Standar *Mc. Farland*  $0,5 \cdot 10^8$  (CFU/ml)
- d. Aquadest steril
- e. DMSO 10%
- f. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* H37RV
- g. 7H9 broth + Casitone
- h. Resazurin 0,01%
- i. Rifampicin 8  $\mu\text{g/ml}$
- j. Label
- k. Spidol permanen

## 3.7. Langkah-Langkah Penelitian

### 3.7.1. Pengolahan Simplisia Daun Kemangi<sup>92</sup>

1. Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kemangi segar berwarna hijau, daun diambil pada pagi hari yang bertujuan untuk mengurangi resiko penguapan air dan mempertahankan kandungan pada tanaman.
2. Daun yang diperoleh dilakukan sortasi basah dengan cara dicuci pada air mengalir.
3. Proses pengeringan dilakukan di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam agar proses penyerapan sinar matahari optimal sehingga mempercepat proses pengeringan, selain itu juga berfungsi untuk mencegah adanya kontaminasi dari luar seperti debu.
4. Dari berat basah simplisia daun kemangi 6 kg diperoleh berat kering sebesar 769 g dengan susut pengeringan 87,82%.
5. Simplisia yang sudah kering disortasi kembali untuk membersihkan kotoran yang masih melekat pada simplisia. Simplisia yang bagus yaitu mudah meremah bila diremas atau mudah patah.

6. Proses pengecilan ukuran partikel menggunakan blender sehingga diperoleh berat serbuk simplisia sebanyak 684,2 g dari 769 g simplisia kering. Penggunaan blender pada proses pengolahan simplisia dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel maka luas permukaan semakin besar dan zat aktif yang terkandung pada daun kemangi pada saat maserasi dapat terserap optimal.

### 3.7.2. Pembuatan Ekstrak Daun Kemangi

Metode yang digunakan untuk ekstraksi daun kemangi adalah metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol 96% merupakan pelarut yang efektif untuk mendapatkan kandungan flavonoid. Langkah-langkah ekstraksi daun kemangi yaitu sebagai berikut:<sup>93</sup>

1. Serbuk daun kemangi 500 g direndam dengan 2.500 ml etanol 96% selama 3x24 jam dan pengadukan selama 15 menit agar homogen selama proses perendaman dan mempercepat kontak antara serbuk simplisia dengan cairan penyaring sehingga senyawa aktif yang didapatkan tertarik dengan sempurna.
2. Maserat disaring dengan menggunakan kain dan corong *Buchner*. Total maserat yang diperoleh dari 2.500 ml pelarut etanol 96% adalah 1.100 ml.
3. Maserat diuapkan dalam vacum *rotary evaporator* untuk memisahkan zat pelarut dari zat terlarut tanpa pemanasan yang tinggi agar senyawa berkhasiat yang terkandung dalam simplisia tetap stabil dan tidak rusak yaitu pada suhu 45<sup>0</sup>C dengan kecepatan 50-60 rpm sampai didapat ekstrak cair sebanyak 500 ml.
4. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dikentalkan dengan kecepatan 240-260 rpm dengan suhu 60<sup>0</sup>C – 70<sup>0</sup>C.
5. Hasil ekstrak kental didapatkan bobot sebanyak 55,2 g.

### 3.7.3. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang digunakan yaitu 2,5%, 1,25% dan 0,625%. Larutan sampel diencerkan dengan pelarut DMSO 10% hingga volumenya 1 ml. Kemudian ekstrak disimpan di lemari pendingin pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  dan terhindar dari cahaya.<sup>93</sup>

### 3.7.4. Uji Fitokimia

Dilakukan uji fitokimia pada ekstrak daun kemangi menggunakan metode kualitatif dengan menambahkan suatu pereaksi ke masing-masing senyawa yang akan diuji dengan melihat perubahan warna dan bentuk cairan yang diujikan.<sup>94</sup>

#### a. Uji Flavonoid

Ekstrak daun kemangi sebanyak 10 mg ditambah 5 ml etanol dan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  sampai terjadi perubahan warna. Kandungan flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru, ungu, hijau, merah maupun hitam. Apabila sampai 20 tetes  $\text{FeCl}_3$  belum terjadi perubahan warna, maka flavonoid negatif.

#### b. Uji Alkaloid

Ekstrak daun kemangi sebanyak 10 mg ditambah 10 ml HCl dan dipanaskan selama 2 menit sambil terus diaduk. Saring campuran ekstrak daun kemangi dan HCl setelah dingin. Filtrat ditambahkan HCl 5 ml dan reagen wagner (yodium dan kalium iodida).

#### c. Uji Saponin

Ekstrak daun kemangi sebanyak 0,5 g ditambahkan air suling sebanyak 5 ml dan dikocok kuat-kuat. Uji positif adanya saponin pada larutan ditandai dengan terbentuknya busa/buih.

#### d. Uji Tanin

Ekstrak daun kemangi sebanyak 0,5 g direbus di dalam 20 ml akuades di dalam tabung reaksi. Saring dan tambahkan beberapa tetes 0,1%  $\text{FeCl}_3$  sampai berubah warna. Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan munculnya warna hijau kecoklatan atau warna biru hitam.

#### e. Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak daun kemangi sebanyak 0,5 g ditambahkan 2 ml etanol lalu dilakukan pemanasan. Tambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrat dan 2 ml asam sulfat lalu homogenkan. Apabila dijumpai warna merah atau ungu maka hasil positif untuk terpenoid, tetapi apabila warna yang terbentuk adalah hijau maka hasil positif untuk steroid.

#### 3.7.5. Uji Kepekaan Metode REMA

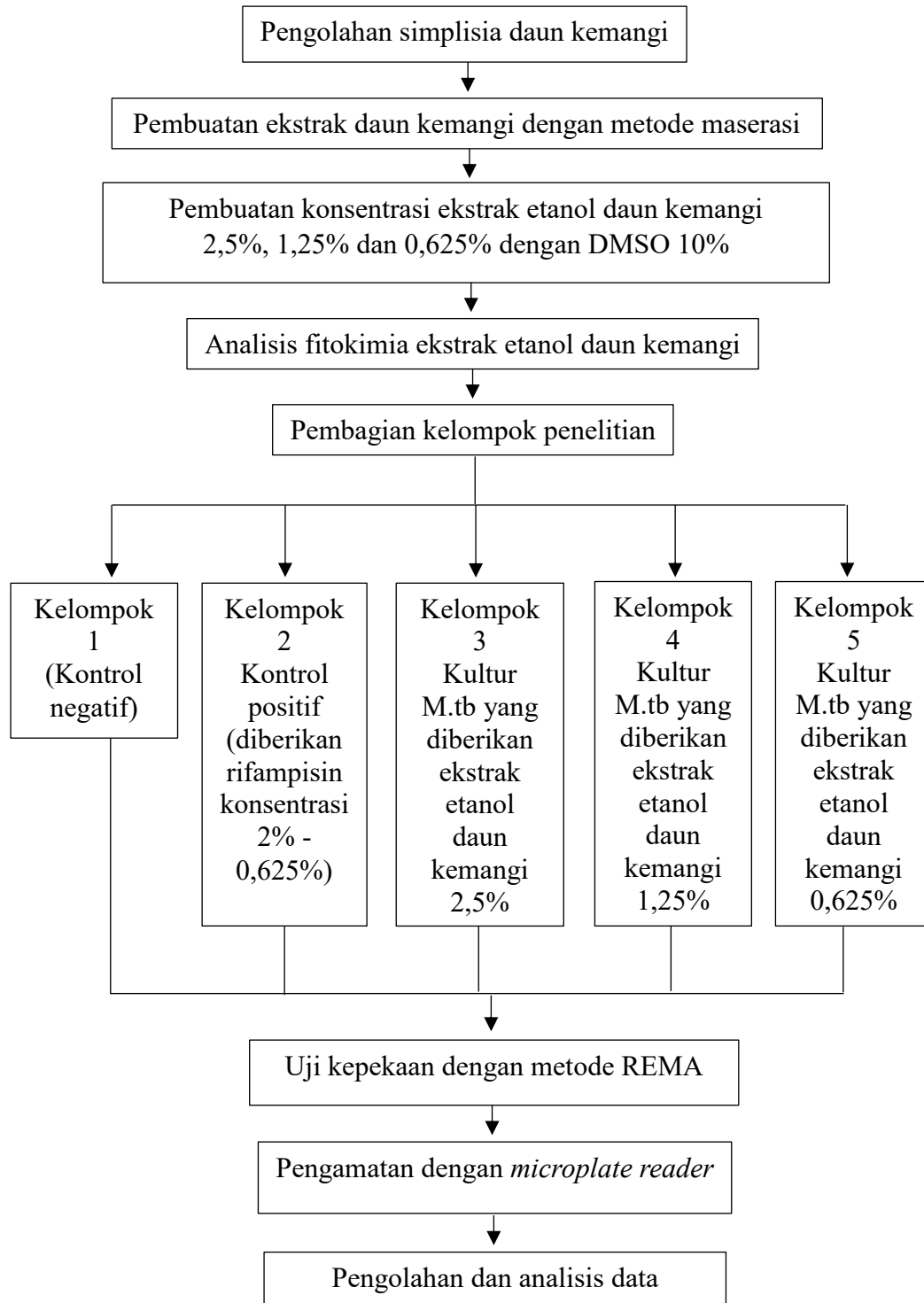
Aktivitas antimikobakteri kuantitatif *in-vitro* dari ekstrak etanol daun kemangi dengan konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625% dievaluasi menggunakan 96 well *microtiter plates* dengan resazurin sebagai indikator viabilitas bakteri. Medium middlebrook 7H9-S sebanyak 100  $\mu$ L dimasukkan kedalam setiap sumur pada *microtiter plate*. Kemudian 100  $\mu$ l ekstrak tumbuhan dengan berbagai konsentrasi dimasukkan ke dalam sumur dan dicampur secara merata. Rifampisin yang dilarutkan dalam dimetil sulfoksida, berperan sebagai kontrol positif pada konsentrasi 8  $\mu$ g/ml. sedangkan media bebas ekstrak/obat yang mengandung suspensi strain digunakan sebagai kontrol negatif. Kemudian plate ditutup dan inkubasi 37°C. Setelah 7 hari inkubasi, 30  $\mu$ L larutan resazurin 0,01% ditambahkan ke setiap sumur dan kembali diinkubasi semalaman. Setelah hari ke 8, diamati apakah terjadi perubahan warna dari biru (proses oksidasi) menjadi merah muda (proses reduksi) yang mengindikasikan pertumbuhan bakteri. Hasilnya dianalisis menggunakan pembaca *microplate* pada 600 nm.<sup>95</sup>

Penelitian dilakukan dengan pengulangan tiga kali penelitian pada setiap perlakuan. Hasil konsentrasi hambat minimum (MIC) dilaporkan sebagai nilai rata-rata. MIC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari ekstrak atau obat yang mencegah perubahan warna resazurin dari biru menjadi merah muda (penentuan visual). Warna biru pada sumur menandakan "tidak ada pertumbuhan mikobakteri", sedangkan warna merah muda menandakan "pertumbuhan mikobakteri".<sup>51</sup>

### **3.8. Analisis Data**

Analisis data dilakukan dengan metode deskriptif kualitatif dikarenakan variabel dependent menunjukkan hasil yang konstan, uji statistik inferensial tidak dapat dilakukan karena memerlukan variabilitas pada kategori untuk menguji hubungan atau perbedaan antar kelompok.

### 3.9. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjar Mada mulai dari bulan September 2024 sampai dengan April 2025.

##### 4.1.1. Hasil Uji Daun Kemangi

Berdasarkan hasil karakterisasi daun kemangi, didapatkan hasil seperti yang terdapat pada tabel berikut ini.

Tabel 4.1. Hasil Uji Daun Kemangi

No.	Jenis Sampel	Kriteria Uji	Hasil Uji	Metode Pengujian
1.	Daun Kemangi	Berat kering	500 g	Pengeringan
2.	Simplisia daun kemangi	Ekstrak cair	3.000 ml	Maserasi
3.	Ekstrak etanol daun kemangi	Bentuk	Kental	Organoleptik
		Bau	Khas	Organoleptik
		Warna	Hijau kehitaman	Organoleptik
		Rasa	Pahit	Evaporasi, water
		Hasil ekstrak kental	55,22 g	Evaporasi, <i>waterbath</i>
		Hasil rendaman ekstrak	11,04%	Evaporasi, <i>waterbath</i>

#### 4.1.2. Hasil Skrining Fitokimia

Uji ini dilakukan untuk menilai kandungan fitokimia dari ekstrak etanol 96% daun kemangi. Sebelum dilakukan skrining fitokimia, terlebih dahulu dilakukan uji bebas etanol. Hasil uji bebas etanol menunjukkan hasil negatif etanol, bau yang dikeluarkan setelah dipanaskan adalah bau murni ekstrak daun kemangi. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 4.2. Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Hitam	+
Alkaloid	Kuning kecoklatan dan terdapat endapan coklat	+
Saponin	Tebentuk busa stabil	+
Tanin	Hijau kehitaman	+
Fenol	Biru kehitaman	+
Steroid	Ungu, biru atau kehijauan	+

Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang disajikan pada tabel 4.2 ditemukan bahwa ekstrak daun kemangi mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, fenol dan steroid.

#### 4.1.3. Hasil Analisis Data

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak etanol daun kemangi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak diuji dalam tiga konsentrasi, yaitu 2,5%, 1,25%, dan 0,625% terhadap *M. tuberculosis* dalam tiga kali pengulangan. Kontrol positif menggunakan Rifampisin dengan berbagai konsentrasi penurunan (0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%), sedangkan kontrol negatif yaitu diberikan pelarut aquadest dan tidak diberikan perlakuan apapun.

Tabel 4.3. Hasil Uji Potensi Rifampisin terhadap Bakteri Mtb

Pengujian	K (B)	Konsentrasi Rifampisin (%)					
		2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625
I	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh
II	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh
III	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh

Keterangan:

K (B) : Kontrol bakteri

Pada hasil di atas didapatkan bahwa dengan kontrol positif yaitu diberikan senyawa Rifampisin pada konsentrasi 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, dan 0,0625%, dengan tiga kali pengulangan pengujian dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*.

Tabel 4.4. Hasil Uji Potensi Ekstrak Daun Kemangi terhadap Bakteri Mtb

Pengujian	K (B)	K (M)	K (P)	Konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi (%)		
				2,5	1,25	0,625
I	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
II	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
III	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh

Keterangan:

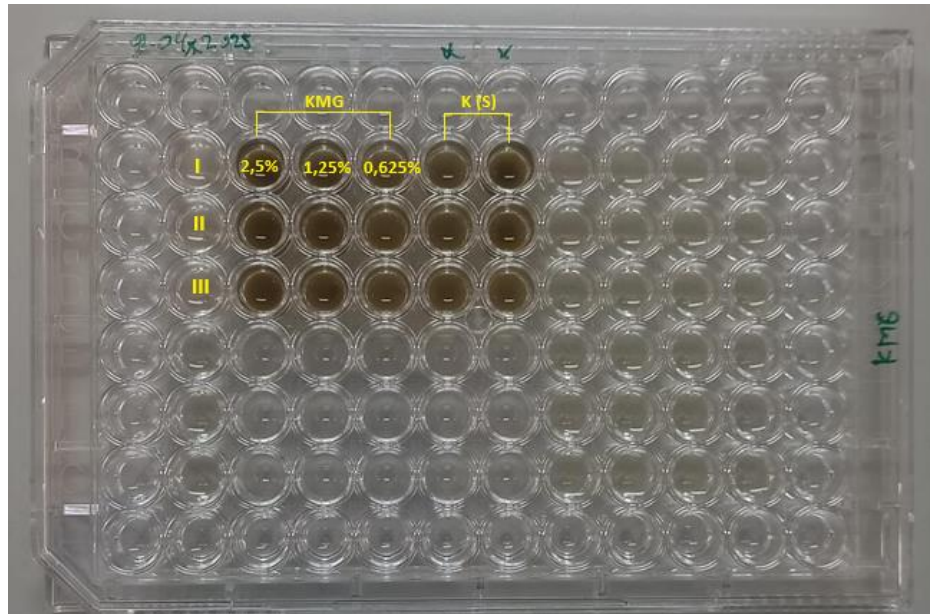
K (B): Kontrol Bakteri; K (M): Kontrol Media (Rifampisin); K (P): Kontrol Pelarut

Pada hasil di atas didapatkan bahwa bakteri *M. tuberculosis* tumbuh pada kontrol yang tidak diberikan apapun [K(B)], tidak tumbuh pada media yang diberikan senyawa rifampisin [K(M)], tetap tumbuh pada kontrol yang diberikan pelarut aquadeest [K(P)], sedangkan pada kontrol media yang diberikan senyawa ekstrak etanol daun kemangi, bakteri *M. tuberculosis* tetap tumbuh pada konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625% setelah dilakukan tiga kali pengulangan pengujian.

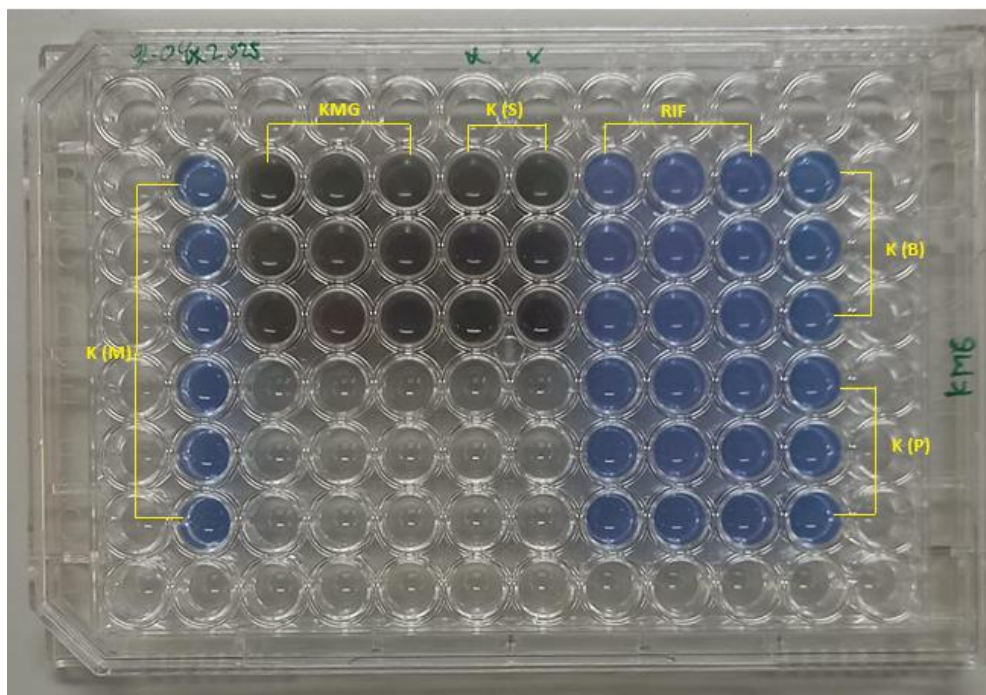
Tabel 4.5. Hasil Kadar Hambat Minimum (KHM)

<b>Pengujian</b>	<b>Konsentrasi (2,5%)</b>	<b>Konsentrasi (1,25%)</b>	<b>Konsentrasi (0,625%)</b>	<b>KHM (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>
<b>I</b>	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	>2,5
<b>II</b>	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	>2,5
<b>III</b>	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	>2,5

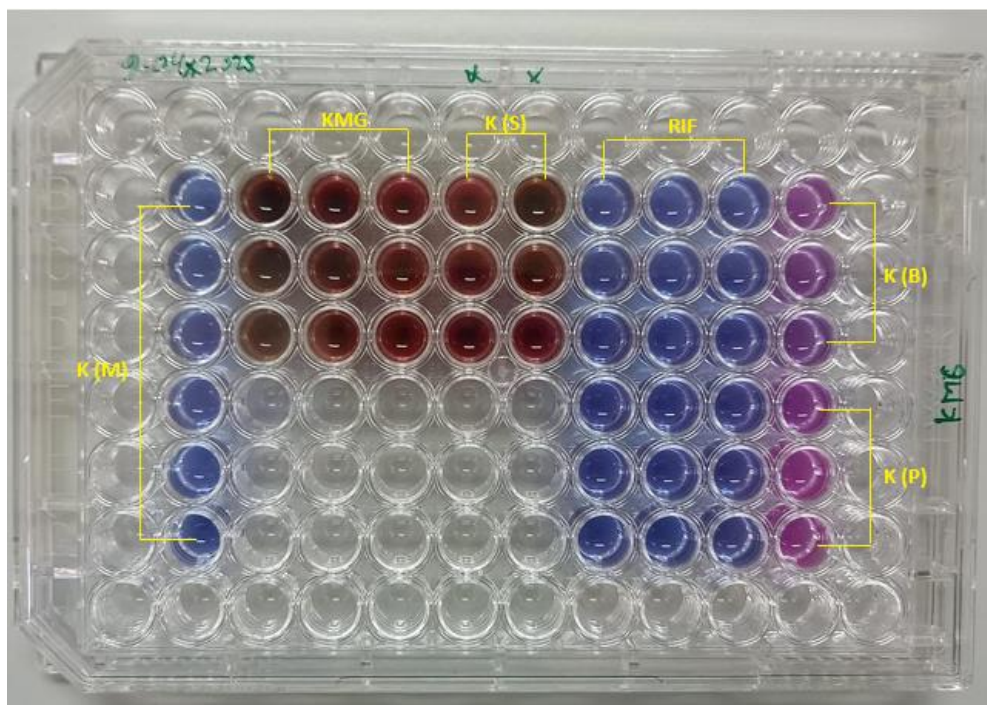
Pada hasil di atas, didapatkan kadar hambat minimum (KHM) bakteri *M. tuberculosis* setelah pemberian ekstrak etanol daun kemangi pada konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625% adalah sebesar >2,5  $\mu\text{g/ml}$ , artinya konsentrasi yang digunakan belum cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri.



(a)



(b)



(c)

Gambar 4.1. Kadar Hambat Minimum

- (a) Pengontakan larutan ekstrak senyawa dengan bakteri *M. tuberculosis* H37Rv;  
 (b) Penambahan Resazurin ke masing-masing kelompok  
 (c) Pengamatan warna yang terjadi pada masing-masing kelompok  
 Ket: KMG: Kemangi; K(M): Kontrol Media; K(S): Kontrol Senyawa; RIF: Rifampisin; K(B): Kontrol Bakteri; K(P): Kontrol Pelarut; I, II, III: Pengulangan perlakuan

Berdasarkan gambar di atas, didapatkan kontrol media 7H9 [K(M)] yaitu media tanpa bakteri Mtb tetap berwarna biru, pada ekstrak etanol daun kemangi dengan konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625% tidak terjadi perubahan warna menjadi biru yang menandakan masih terdapat pertumbuhan bakteri. Pada kontrol senyawa [K(S)] yaitu ekstrak daun kemangi tanpa bakteri tetap berwarna merah kecoklatan, sedangkan pada media yang diberikan Rifampisin didapatkan warna biru yang menandakan tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Pada kontrol bakteri [K(B)] yaitu tanpa diberikan antibiotik atau ekstrak, media berwarna merah muda, menandakan pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada kontrol pelarut [K(P)] yaitu bakteri yang hanya diberikan aquadest didapatkan warna merah muda, menandakan adanya pertumbuhan bakteri. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol

daun kemangi pada konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*.

#### 4.2. Pembahasan

Tuberkulosis telah menjadi masalah kesehatan mayor pada negara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Peningkatan resistensi baik obat lini pertama dan lini kedua menuntut perlunya pencarian agen anti-mikobakteri baru yang efektif, efisien, non-toksik dan hemat biaya. Senyawa anti-mikobakteri yang berasal dari tumbuhan termasuk ke dalam berbagai kelas yang sangat beragam, seperti flavonoid, terpenoid, alkaloid, peptida, fenolik, dan kumarin. Oleh karena itu, tanaman obat tetap menjadi sumber penting dalam menemukan agen terapeutik baru.<sup>96</sup>

Metode REMA dipilih karena memiliki keunggulan dalam hal sensitivitas, waktu yang relatif singkat, serta hasil yang dapat diinterpretasikan secara visual. Dalam penelitian ini, perubahan warna indikator memberikan gambaran langsung mengenai efektivitas senyawa terhadap bakteri uji. Metode REMA menggunakan medium cair *middlebrook* 7H9 dan pengamatannya menggunakan indikator redoks yaitu resazurin untuk mendeteksi pertumbuhan *M. tuberculosis*. Bakteri dalam medium akan menggunakan oksigen dalam senyawa resazurin sehingga akan terjadi perubahan warna indikator dari biru menjadi merah muda. Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya, metode REMA memiliki sensitivitas 80% dan spesifisitas 100% dalam mendeteksi *M. tuberculosis* yang resisten terhadap Rifampisin. Hal ini juga didukung dengan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya di berbagai negara yang menunjukkan bahwa metode REMA memiliki sensitivitas dan spesifisitas hingga rata-rata diatas 90% dalam memberikan gambaran hasil uji kepekaan Rifampisin.<sup>97</sup>

Berdasarkan hasil uji potensi antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode REMA, diketahui bahwa pada konsentrasi 2,5%, 1,25%, maupun 0,625%, bakteri masih menunjukkan pertumbuhan aktif, yang ditandai dengan perubahan warna resazurin menjadi merah muda. Dengan demikian, konsentrasi hambat minimum (MIC)

ekstrak tersebut terhadap *M. tuberculosis* > 2,5 µg/ml. Hasil ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi uji yang digunakan, ekstrak daun kemangi belum efektif dalam menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis*. Hasil tersebut bertentangan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan di Pakistan bahwa ekstrak metanol *Ocimum basilicum* menunjukkan penghambatan hingga 49% terhadap *M. tuberculosis* pada konsenrasi 6,25 mg/ml. Berdasarkan penelitian tersebut daun kemangi yang memisahkan ekstrak metanol menjadi fraksi dan memurnikan senyawa murni, menunjukkan bahwa hanya beberapa senyawa yang memberikan efek inhibisi maksimal 49 % terhadap *M. tuberculosis H37Rv* pada konsentrasi 6,25 µg/mL, bukan penghambatan total.<sup>14</sup>

Diketahui bahwa metabolit sekunder dari daun kemangi seperti flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri Mtb. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa metabolit sekunder berpotensi sebagai antimikobakteri ditinjau melalui pendekatan metode *in silico*.<sup>98</sup> Senyawa flavonoid berfungsi melawan radikal bebas hidroksil, anion superoksida, dan radikal peroksi lemak. Flavonoid juga dapat menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, metabolisme energi, pengikatan dan pembentukan biofilm, penghambatan porin pada membran sel, serta perubahan permeabilitas membrane bakteri.<sup>76</sup>

Sedangkan tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat mengikat protein, asam amino, alkaloid, dan mengendapkannya sebagai biomolekul antimikroba. Selain itu, saponin sebagai antibakteri bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, sehingga merusak permeabilitas membran sel, yang menyebabkan lisis, membuat enzim dan protein keluar dari sel. Pelepasan isi sel ini menyebabkan kematian sel bakteri. Mekanisme antibakteri saponin dijelaskan melalui kerusakan dinding dan membran sel yang ditentukan dengan mengukur kadar PPA dan protein terlarut. Senyawa alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk sempurna yang cenderung menyebabkan kematian sel. Selain itu, alkaloid menghambat sintesis DNA dengan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri. Sementara itu, potensi steroid sebagai antibakteri disebabkan oleh sensitivitas

membran lipid sel terhadap komponen steroid yang mengakibatkan kebocoran liposom. Steroid adalah senyawa lipofilik, oleh karena itu dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang permeabel terhadap senyawa lipofilik.<sup>99,100</sup>

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan di Ethiopia, ekstrak 80% metanol dari biji *O. basilicum* menunjukkan aktivitas antimikobakteri yang menjanjikan terhadap strain *M. tuberculosis* (H37Rv, SIT777, SIT73, SIT26, SIT37, SIT1688, SIT336, SIT149, SIT53 dan SIT54) dan *M. bovis* (SB1176, SB1953 dan SB0133). Pada penelitian tersebut dengan menggunakan metode REMA memperlihatkan aktivitas anti-mikobakteri melawan *M. tuberculosis* dan *M. bovis* dengan rata-rata konsentrasi hambat minimum 6,25 sampai dengan 100 µg/ml. Hal ini mungkin disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif seperti alkaloid, tanin, saponin, fenol, flavonoid, dan senyawa lainnya yang terdapat dalam ekstrak tersebut.<sup>101</sup>

Pada penelitian lain didapatkan hasil bahwa ekstrak daun *Ocimum sanctum* dapat menghambat bakteri *Mycobacterium smegmatis* dengan MIC 250 µg/ml. Kandungan fitokimia aktif seperti alkaloid, flavonoid dan saponin diduga berkontribusi dalam menghambat bakteri tersebut.<sup>102</sup> Pada penelitian sebelumnya juga terjadi penurunan signifikan dalam laju pertumbuhan *M. tuberculosis* menggunakan ekstrak alkohol *Ocimum sanctum* dengan dosis 0,25 µl dan 0,5 µl.<sup>103</sup>

Penelitian lainnya mengenai efek anti-tuberkulosis dari *Ocimum sanctum* secara *in vitro* dan kultur makrofag menunjukkan bahwa *Ocimum sanctum* memiliki efek anti-tuberkulosis poten baik secara langsung maupun pada kultur makrofag yang terinfeksi.<sup>104</sup> Hasil yang sama juga didapatkan dari penelitian sebelumnya yaitu efek anti-tuberkulosis dari minyak atsiri *Ocimum sanctum* L. (OsEO). OsEO menghambat pertumbuhan H37Rv dengan MIC sebesar 3 ml (2,931 mg). OsEO juga menghambat pertumbuhan kesembilan isolat klinis *M. tuberculosis* yang diuji, dengan MIC berkisar antara 1,5 ml (1,4655 mg) hingga 6 ml (5,862 mg).<sup>17</sup> Hasil penelitian lainnya membuktikan bahwa *Ocimum sanctum* juga menunjukkan penghambatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv masing-masing sebesar 63,71% dan 62,22% dengan menggunakan ekstrak tanaman air 5%.<sup>105</sup>

### 4.3. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini tidak menemukan efek signifikan ekstrak etanol daun kemangi terhadap *M. tuberculosis*, bertentangan dengan hipotesis awal. Namun, hasil ini harus ditafsirkan dengan hati-hati karena beberapa keterbatasan:

1. Rentang konsentrasi yang digunakan kemungkinan belum optimal untuk menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*.
2. Komposisi kimia ekstrak belum dianalisis secara penuh, misalnya dengan LC-MS atau GC-MS.
3. Tidak dilakukan analisis lanjutan untuk mengidentifikasi senyawa aktif spesifik yang berperan, sehingga mekanisme hambat tidak dapat dijelaskan secara pasti.
4. Variasi dalam fase pertumbuhan inokulum atau viabilitas bakteri dapat memengaruhi respon pada REMA dan menimbulkan variasi hasil.
5. Penentuan *end-point* menggunakan perubahan warna resazurin dapat dipengaruhi oleh subjektivitas pembacaan, diperlukan pengukuran absorbansi spektral atau pengulangan dengan metode lain, misalnya *Colony-Forming Unit (CFU) count* yang akan memperkuat temuan.
6. Proses ekstraksi etanol mungkin tidak optimal dalam menarik senyawa antibakteri dari daun kemangi.
7. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro*, sehingga hasil belum dapat digeneralisasikan untuk kondisi *in vivo*. Faktor interaksi senyawa dengan sistem imun dan metabolisme tubuh belum diperhitungkan.

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

1. Ekstrak etanol daun kemangi tidak menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 2,5%, 1,25% dan 0,625% terhadap bakteri *M. tuberculosis*.
2. Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun kemangi yang efektif menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* adalah lebih dari 2,5%.
3. Pada uji fitokimia ekstrak daun kemangi didapatkan kandungan flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri.
4. Pada hasil penelitian didapatkan perubahan warna indikator resazurin menjadi warna merah muda, yang menandakan masih terdapat pertumbuhan *M. tuberculosis* pada berbagai konsentrasi uji.

#### **4.1. Saran**

1. Pada penelitian selanjutnya dibutuhkan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi diatas 2,5% untuk mengevaluasi potensi penghambatan bakteri *M. tuberculosis*.
2. Diperlukan identifikasi bakteri dan uji terhadap berbagai strain lainnya agar dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif.
3. Perlu dilakukan standarisasi dan analisis profil fitokimia ekstrak sebelum uji aktivitas, misalnya dengan LC-MS atau GC-MS.
4. Dapat dipertimbangkan uji ekstrak dengan pelarut lain (misalnya air atau metanol).
5. Gunakan metode tambahan (*CFU plating*, *time-kill assays*) dan pembacaan absorbansi untuk validasi.
6. Diperlukan studi lebih lanjut mengenai manfaat ekstrak daun kemangi terhadap *M. tuberculosis* yang dilakukan secara *in-vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Tuberculosis. March 2025. Accessed April 20, 2025. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
2. *Global Tuberculosis Report 2023.*; 2023. <https://iris.who.int/>.
3. *Global Tuberculosis Report 2024.*; 2024. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379339/9789240101531-eng.pdf?sequence=1>
4. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Laporan Program Penanggulangan Tuberkulosis Tahun 2021.*; 2021.
5. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI). *Pedoman Diagnosis Dan Penatalaksanaan Tuberkulosis Di Indonesia.*; 2021.
6. Alsayed SSR, Gunosewoyo H. Tuberculosis: Pathogenesis, Current Treatment Regimens and New Drug Targets. *Int J Mol Sci. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. 2023;24(6). doi:10.3390/ijms24065202
7. Farida F. Faktor keberhasilan pengobatan Multi Drug Resistance Tuberculosis (MDR-TB) di Indonesia: Tinjauan Sistematis. *Journal of Health Epidemiology and Communicable Diseases*. 2020;6(1):33-39. doi:10.22435/jhecds.v6i1.3206
8. Hall L, Jude KP, Clark SL, Wengenack NL. Antimicrobial susceptibility testing of mycobacterium tuberculosis complex for first and second line drugs by broth dilution in a microtiter plate format. *Journal of Visualized Experiments*. 2011;(52). doi:10.3791/3094
9. SARI M. Evaluasi aktivitas anti mikobakterium tanaman obat Indonesia dengan pengujian reduksi resazurin. In: Masyarakat Biodiversitas Indonesia; 2016. doi:10.13057/psnmbi/m020203
10. Jaglal P, Pillay M, Mlisana K. Resazurin microtitre plate assay and Sensititre® MycoTB for detection of Mycobacterium tuberculosis resistance in a high tuberculosis resistance setting. *Afr J Lab Med*. 2019;8(1). doi:10.4102/ajlm.v8i1.840
11. Srivastava S, Cahill DM, Conlan XA, Adholeya A. A novel in vitro whole plant system for analysis of polyphenolics and their antioxidant potential in cultivars of *Ocimum basilicum*. *J Agric Food Chem*. 2014;62(41):10064-10075. doi:10.1021/jf502709e
12. Al Abbasy DW, Pathare N, Al-Sabahi JN, Khan SA. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* Linn.). *Asian Pac J Trop Dis*. 2015;5(8):645-649. doi:10.1016/S2222-1808(15)60905-7
13. Hadanu R, . S, Syahrudin Muh, wahyuningrum R, GP S. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Tolaki-Mekongga Tribe of Kolaka Regency and East Kolaka Regency, Southeast Sulawesi, Indonesia. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2022;10(6):20-29. doi:10.22271/plants.2022.v10.i6a.1484
14. Siddiqui BS, Bhatti HA, Begum S, Perwaiz S. Evaluation of the antimycobacterium activity of the constituents from *Ocimum basilicum*

- against *Mycobacterium tuberculosis*. *J Ethnopharmacol*. 2012;144(1):220-222. doi:10.1016/j.jep.2012.08.003
15. Gemechu A, Giday M, Worku A, Ameni G. *In Vitro Anti-Mycobacterial Activity of Selected Medicinal Plants against Mycobacterium Tuberculosis and Mycobacterium Bovis Strains.*; 2013. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/291>
  16. Kamelnia E, Mohebbati R, Kamelnia R, El-Seedi HR, Boskabady MH. Anti-inflammatory, immunomodulatory and anti-oxidant effects of *Ocimum basilicum* L. and its main constituents: A review. *Iran J Basic Med Sci*. 2023;26(6):617-627. doi:10.22038/IJBMS.2023.67466.14783
  17. Jayapal V, Vidya Raj CK, Muthaiah M, et al. In-vitro anti-*Mycobacterium tuberculosis* effect of essential oil of *Ocimum sanctum* L. (Tulsi/Basil) leaves. *Indian Journal of Tuberculosis*. 2021;68(4):470-473. doi:10.1016/j.ijtb.2021.02.009
  18. Gemechu A, Giday M, Worku A, Ameni G. *In Vitro Anti-Mycobacterial Activity of Selected Medicinal Plants against Mycobacterium Tuberculosis and Mycobacterium Bovis Strains.*; 2013. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/291>
  19. Gemechu A, Giday M, Worku A, Ameni G. *In Vitro Anti-Mycobacterial Activity of Selected Medicinal Plants against Mycobacterium Tuberculosis and Mycobacterium Bovis Strains.*; 2013. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/291>
  20. Kanabalan RD, Lee LJ, Lee TY, et al. Human tuberculosis and *Mycobacterium tuberculosis* complex: A review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery. *Microbiol Res.Elsevier GmbH*. 2021;246. doi:10.1016/j.micres.2020.126674
  21. Kaufmann SHE, Schaible UE. 100th anniversary of Robert Koch's Nobel Prize for the discovery of the tubercle bacillus. *Trends Microbiol*. 2005;13(10):469-475. doi:10.1016/j.tim.2005.08.003
  22. Mbuh TP, Ane-Anyangwe I, Adeline W, Thumamo Pokam BD, Meriki HD, Mbacham WF. Bacteriologically confirmed extra pulmonary tuberculosis and treatment outcome of patients consulted and treated under program conditions in the littoral region of Cameroon. *BMC Pulm Med*. 2019;19(1). doi:10.1186/s12890-018-0770-x
  23. Mathiasen VD, Andersen PH, Johansen IS, Lillebaek T, Wejse C. Clinical features of tuberculous lymphadenitis in a low-incidence country. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020;98:366-371. doi:10.1016/j.ijid.2020.07.011
  24. Nurul Hidayah Hamzah. *Pengaruh Epigallokatekin Galat (EGCG) Untuk Meningkatkan Aktivitas Antibakteri Isoniazid.*; 2023.
  25. Akbar A, Farni P. Morphological Characterization of *Mycobacterium tuberculosis*. In: *Understanding Tuberculosis - Deciphering the Secret Life of the Bacilli*. InTech; 2012. doi:10.5772/29644
  26. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan Nasional RISKESDAS. Published online 2018.

27. Liu CH, Liu H, Ge B. Innate immunity in tuberculosis: Host defense vs pathogen evasion. *Cell Mol Immunol.Chinese Soc Immunology*. 2017;14(12):963-975. doi:10.1038/cmi.2017.88
28. Wijaya C, Fatmawati F. Peranan Sel Sistem Imun Alamiah Pada Infeksi Mycobacterium tuberculosis. *Jurnal Ilmu Kedokteran (Journal of Medical Science)*. 2022;16(2):71. doi:10.26891/jik.v16i2.2022.71-78
29. Barber-Mayer KD, Barber DL. Innate and adaptive cellular immune responses to Mycobacterium tuberculosis infection. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(12). doi:10.1101/cshperspect.a018424
30. Luies L, Preez I du. The echo of pulmonary tuberculosis: Mechanisms of clinical symptoms and other disease-induced systemic complications. *Clin Microbiol Rev.American Society for Microbiology*. 2020;33(4):1-19. doi:10.1128/CMR.00036-20
31. Wijaya C, Fatmawati F. Peranan Sel Sistem Imun Alamiah Pada Infeksi Mycobacterium tuberculosis. *Jurnal Ilmu Kedokteran (Journal of Medical Science)*. 2022;16(2):71. doi:10.26891/jik.v16i2.2022.71-78
32. Meditory M, Issn Online |, Issn Cetak ; *Peranan Sistem Imunitas Melawan Infeksi Tuberkulosis Paru-Paru*. Vol 11. <http://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id/index.php/M>
33. Hunter RL. The pathogenesis of tuberculosis: The early infiltrate of post-primary (adult pulmonary) tuberculosis: A distinct disease entity. *Front Immunol.Frontiers Media S.A*. 2018;9(SEP). doi:10.3389/fimmu.2018.02108
34. Hunter RL. Tuberculosis as a three-act play: A new paradigm for the pathogenesis of pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis*. 2016;97:8-17. doi:10.1016/j.tube.2015.11.010
35. Cadena AM, Flynn JL, Fortune SM. The importance of first impressions: Early events in mycobacterium tuberculosis infection influence outcome. *mBio.American Society for Microbiology*. 2016;7(2). doi:10.1128/mBio.00342-16
36. Guirado E, Schlesinger LS. Modeling the Mycobacterium tuberculosis granuloma - the critical battlefield in host immunity and disease. *Front Immunol*. 2013;4(APR). doi:10.3389/fimmu.2013.00098
37. Chandra P, Grigsby SJ, Philips JA. Immune evasion and provocation by Mycobacterium tuberculosis. *Nat Rev Microbiol.Nature Research*. 2022;20(12):750-766. doi:10.1038/s41579-022-00763-4
38. Wijaya C, Fatmawati F. Peranan Sel Sistem Imun Alamiah Pada Infeksi Mycobacterium tuberculosis. *Jurnal Ilmu Kedokteran (Journal of Medical Science)*. 2022;16(2):71. doi:10.26891/jik.v16i2.2022.71-78
39. Cooper AM, Dalton DK, Stewart TA, Griffin JP, Russell DG, Orme IM. *Disseminated Tuberculosis in Interferon 7 Gene-Disrupted Mice*. <http://rupress.org/jem/article-pdf/178/6/2243/1675002/2243.pdf>
40. O'Garra A, Redford PS, McNab FW, Bloom CI, Wilkinson RJ, Berry MPR. The immune response in tuberculosis. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:475-527. doi:10.1146/annurev-immunol-032712-095939

41. Etna MP, Giacomini E, Severa M, Coccia EM. Pro-and anti-inflammatory cytokines in tuberculosis: A two-edged sword in TB pathogenesis. *Semin Immunol.Academic Press*. 2014;26(6):543-551. doi:10.1016/j.smim.2014.09.011
42. Ndzi EN, Nkenfou CN, Mekue LM, et al. MicroRNA hsa-miR-29a-3p is a plasma biomarker for the differential diagnosis and monitoring of tuberculosis. *Tuberculosis*. 2019;114:69-76. doi:10.1016/j.tube.2018.12.001
43. Palomino JC. Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: Feasibility and applicability in the field. *European Respiratory Journal*. 2005;26(2):339-350. doi:10.1183/09031936.05.00050305
44. Marise, Hussey A, Zayaitz A. *Acid-Fast Stain Protocols*.; 2008.
45. Informasi Kesehatan R, Murtafi matul, Rahmi Fadhilah F, Krisdaryani R, Tinggi Ilmu Kesehatan Rajawali S. Perbandingan hasil pemeriksaan Mycobacterium tuberculosis dengan GeneXpert dan pewarnaan Ziehl Neelsen. *Riset Informasi Kesehatan*. 2020;9(2). doi:10.30644/rik.v8i2.381
46. Kumari P, Thakur JK, Kumar P, Kumar R, Parekh D. Comparison of LJ Medium and BACTEC MGIT 960 Culture System for the Diagnosis of Tuberculosis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. Published online 2020. doi:10.7860/jcdr/2020/46890.14304
47. Alva A, Aquino F, Gilman RH, et al. Morphological characterization of Mycobacterium tuberculosis in a MODS culture for an automatic diagnostics through pattern recognition. *PLoS One*. 2013;8(12). doi:10.1371/journal.pone.0082809
48. Katawera V, Siedner M, Ii YB. *Evaluation of the Modified Colorimetric Resazurin Microtiter Plate-Based Antibacterial Assay for Rapid and Reliable Tuberculosis Drug Susceptibility Testing*.; 2014. <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/14/259>
49. Purnamasari Y, Attamimi F, Nasrum Massi M. Perbandingan Metode Proporsi dengan Metode Resazurin Microtiter Assay (Rema) untuk Deteksi Mycobacterium tuberculosis yang Resisten Terhadap Rifampisin 1. 2015;2(2).
50. Purnamasari Y, Attamimi F, Nasrum Massi M. Perbandingan Metode Proporsi dengan Metode Resazurin Microtiter Assay (Rema) untuk Deteksi Mycobacterium tuberculosis yang Resisten Terhadap Rifampisin 1. 2015;2(2).
51. Vaghela K, Bhatt D, Jethva KD, Bhatt DR, Zaveri MN. Antimycobacterial Screening of Selected Medicinal Plants Using MTT and the Microplate Resazurin Assay. *Int J Pharm Sci Res*. 2021;12(3):1537. doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.12(3).1537-45
52. Kambuno NT, Senge YH, Djuma AW, Barung EN. Uji Tuberkulosis Laten Pada Kontak Serumah Pasien BTA Positif Dengan Metode Mantoux Test. *Jurnal Info Kesehatan*. 2019;17(1):50-63. doi:10.31965/infokes.vol17.iss1.239
53. Setyorini RH, Triani E, Syari K, Primayanti I. Uji Tuberkulin pada Anak yang Memiliki Kontak Serumah dengan Penderita TB Paru di Wilayah Kerja

- Puskesmas Gunung Sari. *Jurnal Kedokteran*. 2018;7(3):14-16. <https://jurnal.ugm.ac>.
54. Sirait N, Parwati I, Dewi NS, Suraya N. *Validitas Metode Polymerase Chain Reaction GeneXpert MTB/RIF Pada Bahan Pemeriksaan Sputum Untuk Mendiagnosis Multidrug Resistant Tuberculosis*. Vol 45.; 2013.
  55. Susanty E, Amir Z, Siagian P, Yunita R, Eyoer PC. Uji Diagnostik Genexpert Mtb/Rif Di Rumah Sakit Umum Pusat Haji Adam Malik Medan. *Jurnal Biosains*. 2016;1(2):19. doi:10.24114/jbio.v1i2.2783
  56. Mack U, Migliori GB, Sester M, et al. LTBI: Latent tuberculosis infection or lasting immune responses to *M. tuberculosis*? A TBNET consensus statement. In: *European Respiratory Journal*. Vol 33. 2009:956-973. doi:10.1183/09031936.00120908
  57. Lalvani A, Pareek M. Interferon gamma release assays: principles and practice. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(4):245-252. doi:10.1016/j.eimc.2009.05.012
  58. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran: Tatalaksana Tuberkulosis*.; 2020.
  59. Jena L, Waghmare P, Kashikar S, Kumar S, Harinath BC. Computational approach to understanding the mechanism of action of isoniazid, an anti-TB drug. *Int J Mycobacteriol*. 2014;3(4):276-282. doi:10.1016/j.ijmyco.2014.08.003
  60. Somasundaram S, Ram A, Sankaranarayanan L. Isoniazid and Rifampicin as Therapeutic Regimen in the Current Era: A Review. *J Tuberc Res*. 2014;02(01):40-51. doi:10.4236/jtr.2014.21005
  61. Rafiq S, Iqbal T. *Pharmacokinetic Studies of Rifampicin in Healthy Volunteers and Tuberculosis Patients*.; 2010. <http://www.fspublishers.org>
  62. Yamashita F, Sasa Y, Yoshida S, et al. Modeling of Rifampicin-Induced CYP3A4 Activation Dynamics for the Prediction of Clinical Drug-Drug Interactions from In Vitro Data. *PLoS One*. 2013;8(9). doi:10.1371/journal.pone.0070330
  63. Kenny JR, Ramsden D, Buckley DB, et al. Considerations from the innovation and quality induction working group in response to drug-drug interaction guidances from regulatory agencies: Focus on CYP3A4 mRNA in vitro response thresholds, variability, and clinical relevances. *Drug Metabolism and Disposition*. 2018;46(9):1285-1303. doi:10.1124/dmd.118.081927
  64. European Medicines Agency. *Anti-Tuberculosis Medicinal Products Containing Isoniazid, Rifampicin, Pyrazinamide, Ethambutol, Rifabutin: Posology in Children*.; 2012. [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)
  65. Zhang Y, Shi W, Zhang W, Mitchison D. Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance. *Microbiol Spectr*. 2014;2(4). doi:10.1128/microbiolspec.mgm2-0023-2013
  66. Palomino JC, Martin A. Drug resistance mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics.MDPI AG*. 2014;3(3):317-340. doi:10.3390/antibiotics3030317

67. Kolita B, Gogoi D, Dutta PP, Bordoloi M, Bezbaruah RL. Arabinosyl transferase inhibitor design against Mycobacterium tuberculosis using ligand based drug design approach. *Bangladesh J Pharmacol.* 2014;9(2):225-229. doi:10.3329/bjp.v9i2.18270
68. Pandey AK, Singh P, Tripathi NN. Chemistry and bioactivities of essential oils of some Ocimum species: An overview. *Asian Pac J Trop Biomed.Asian Pacific Tropical Biomedicine Press.* 2014;4(9):682-694. doi:10.12980/APJTB.4.2014C77
69. Snoussi M, Dehmani A, Noumi E, Flamini G, Papetti A. Chemical composition and antibiofilm activity of Petroselinum crispum and Ocimum basilicum essential oils against Vibrio spp. strains. *Microb Pathog.* 2016;90:13-21. doi:10.1016/j.micpath.2015.11.004
70. Azizah NS, Irawan B, Kusmoro J, et al. Sweet Basil (Ocimum basilicum L.)—A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacological Activities, and Biotechnological Development. *Plants.Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).* 2023;12(24). doi:10.3390/plants12244148
71. Sorayya Fauzia R, Rahayu T, Farmasi F, Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta Jl Yani FA. *Uji Aktivitas Aantibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum Basilicum L.) Terhadap Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli.* Vol 8.; 2007.
72. Purushothaman B, Prasannasrinivasan R, Suganthi P, Ranganathan B, Gimbin J, Shanmugam K. A comprehensive review on Ocimum basilicum. *Journal of Natural Remedies.* 2018;18(3):71-85. doi:10.18311/jnr/2018/21324
73. Kamelnia E, Mohebbati R, Kamelnia R, El-Seedi HR, Boskabady MH. Anti-inflammatory, immunomodulatory and anti-oxidant effects of Ocimum basilicum L. and its main constituents: A review. *Iran J Basic Med Sci.* 2023;26(6):617-627. doi:10.22038/IJBMS.2023.67466.14783
74. Pandey AK, Singh P, Tripathi NN. Chemistry and bioactivities of essential oils of some Ocimum species: An overview. *Asian Pac J Trop Biomed.Asian Pacific Tropical Biomedicine Press.* 2014;4(9):682-694. doi:10.12980/APJTB.4.2014C77
75. Widya Utami P, Syaflida R, Siregar IB. Laporan penelitian Pengaruh ekstrak daun kemangi (Ocimum basilicum L) terhadap Staphylococcus aureus di rongga mulut. *Oktober.* Published online 2020. doi:10.24198/jkg.v32i1.29968
76. Pakadang SR, Hilaria M, Dewi STR, Sinala S, Jumain. MIC and MKC analysis of herbal medicine in Indonesia against mycobacterium tuberculosis. *Pharmacognosy Journal.* 2021;13(5):1058-1064. doi:10.5530/pj.2021.13.137
77. Cao R, Teskey G, Islamoglu H, et al. Flavonoid Mixture Inhibits Mycobacterium tuberculosis Survival and Infectivity. *Molecules.* 2019;24(5). doi:10.3390/molecules24050851
78. Zainur R, Yufen Widodo dan, Kemenkes Palembang Jurusan Keperawatan Gigi P. Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum basilicum) sebagai Obat

- Kumur terhadap Akumulasi Plak. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang*. 2018;13(1).
79. Julung H, Supiandi MI, Ege B, Zubaidah S, Mahanal S. Ethnobotany of medicinal plants in the Dayak Linoh Tribe in Sintang District, Indonesia. *Biodiversitas*. 2023;24(2):767-775. doi:10.13057/biodiv/d240212
  80. Sestili P, Ismail T, Calcabrini C, et al. The potential effects of *Ocimum basilicum* on health: a review of pharmacological and toxicological studies. *Expert Opin Drug Metab Toxicol. Taylor and Francis Ltd*. 2018;14(7):679-692. doi:10.1080/17425255.2018.1484450
  81. Nabrdalik M. *Antibacterial Activity of Ocimum Basilicum L. Essential Oil against Gram-Negative Bacteria.*; 2016. <https://www.researchgate.net/publication/307578456>
  82. Silva VA, Da Sousa JP, De Luna Freire Pessôa H, et al. *Ocimum basilicum*: Antibacterial activity and association study with antibiotics against bacteria of clinical importance. *Pharm Biol*. 2016;54(5):863-867. doi:10.3109/13880209.2015.1088551
  83. Chukwuma IF, Uchendu NO, Asomadu RO, Ezeorba WFC, Ezeorba TPC. African and Holy Basil - a review of ethnobotany, phytochemistry, and toxicity of their essential oil: Current trends and prospects for antimicrobial/anti-parasitic pharmacology. *Arabian Journal of Chemistry. Elsevier B.V*. 2023;16(7). doi:10.1016/j.arabjc.2023.104870
  84. Elansary HO, Szopa A, Kubica P, et al. Saudi *Rosmarinus officinalis* and *Ocimum basilicum* L. Polyphenols and biological activities. *Processes*. 2020;8(4). doi:10.3390/PR8040446
  85. Papuc C, Goran G V., Predescu CN, Nicorescu V, Stefan G. Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2017;16(6):1243-1268. doi:10.1111/1541-4337.12298
  86. Aminian AR, Mohebbati R, Boskabady MH. The Effect of *Ocimum basilicum* L. and Its Main Ingredients on Respiratory Disorders: An Experimental, Preclinical, and Clinical Review. *Front Pharmacol. Frontiers Media S.A*. 2022;12. doi:10.3389/fphar.2021.805391
  87. Takeuchi H, Takahashi-Muto C, Nagase M, Kassai M, Tanaka-Yachi R, Kiyose C. Anti-inflammatory effects of extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* l.) on a co-culture of 3t3-l1 adipocytes and raw264.7 macrophages. *J Oleo Sci*. 2020;69(5):487-493. doi:10.5650/jos.ess19321
  88. Eftekhar N, Moghimi A, Hossein Boskabady M, Kaveh M, Shakeri F. *Ocimum basilicum* affects tracheal responsiveness, lung inflammatory cells and oxidant-antioxidant biomarkers in sensitized rats. *Drug Chem Toxicol*. 2019;42(3):286-294. doi:10.1080/01480545.2018.1459672
  89. Selvakkumar C, Gayathri B, Sanathkumar Vinaykumar K, Lakshmi BS, Balakrishnan A. *Potential Anti-Inflammatory Properties of Crude Alcoholic Extract of Ocimum Basilicum L. in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells*. Vol 53.; 2007.

90. Palomino JC, Martin A, Camacho M, Guerra H, Swings J, Portaels F. Resazurin microtiter assay plate: Simple and inexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(8):2720-2722. doi:10.1128/AAC.46.8.2720-2722.2002
91. Hanafiah, Sutedia A, Ahmaddien I. *Pengantar Statistika.*; 2020.
92. Ariani N, Rizki Febrianti D, Niah Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin R. Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Pharmascience.* 2020;07(01):107-115.  
<https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>
93. Studi Biologi P, Mipa F, Tanjungpura U, et al. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum Sanctum L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus.* Vol 4.; 2015.
94. Lina M, Kumalasari F, Andiarna F, et al. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*). *Indonesian Journal for Health Sciences.* 2020;4(1):39-44.
95. Jaglal P, Pillay M, Mlisana K. Resazurin microtitre plate assay and Sensititre® MycoTB for detection of Mycobacterium tuberculosis resistance in a high tuberculosis resistance setting. *Afr J Lab Med.* 2019;8(1). doi:10.4102/ajlm.v8i1.840
96. Mmushi TJ, Masoko P, Mdee LK, Mokgotho MP, Mampuru LJ, Howard RL. *Antimycobacterial Evaluation of Fifteen Medicinal Plants in South Africa.* Vol 7.; 2010. [www.africanethnomedicines.net](http://www.africanethnomedicines.net)
97. Purnamasari Y, Attamimi F, Nasrum Massi M. Perbandingan Metode Proporsi dengan Metode Resazurin Microtiter Assay (Rema) untuk Deteksi Mycobacterium tuberculosis yang Resisten Terhadap Rifampisin 1. 2015;2(2).
98. Kumar M, Singh SK, Singh PP, et al. Potential anti-mycobacterium tuberculosis activity of plant secondary metabolites: Insight with molecular docking interactions. *Antioxidants.MDPI.* 2021;10(12). doi:10.3390/antiox10121990
99. Damintoti Karou S, Canini A, Montesano C. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *Article in African Journal of Biotechnology.* Published online 2006. doi:10.4314/ajb.v4i12.71463
100. Mabhiza D, Chitemerere T, Mukanganyama S. Antibacterial Properties of Alkaloid Extracts from *Callistemon citrinus* and *Vernonia adoensis* against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* . *Int J Med Chem.* 2016;2016:1-7. doi:10.1155/2016/6304163
101. Arya V, Shaheed Baba A, Singh A, Singh Memorial J. *A Review on Anti-Tubercular Plants.* Vol 3.; 2011.  
<https://www.researchgate.net/publication/267963188>
102. Jethva K, Bhatt D, Zaveri M. Phytochemical evaluation and anti-tuberculosis activity of selected nine ethnomedicinal plants. ~ 25 ~ *International Journal of Herbal Medicine.* 2017;5(1):25-30.

103. Shukla P, Sharma A. *Effect of Some Medicinal Plants on Growth of Mycobacterium Tuberculosis, Multi Drug Resistant Mycobacterium Tuberculosis and Mycobacterium Other than Tuberculosis*. Vol 14.; 2013. <https://www.researchgate.net/publication/258764401>
104. Farivar TN, Fard AHM, Zahedani SS, Naderi M, Moud BS. Anti tuberculosis effect of *Ocimum sanctum* extracts in in vitro and macrophage culture. *Journal of Medical Sciences*. 2006;6(3):348-351. doi:10.3923/jms.2006.348.351
105. Srivastava VK, Gupta UD, Tripathi P. *Potentiality of Anti-Mycobacterium (Anti-Ubercular) Activity of Ocimum Sanctum Potentiality of Anti-Mycobacterium (Anti-Ubercular) Activity of Ocimum Sanctum Adhatoda Vasica, Aloe Vera, Phyllanthus Emblica, Pipper Longum, Glycyrrhiza Glabra Allium Sativum, Zingiber Officinale & Curcuma Longa against M. Tuberculosis*. Vol 7.; 2015. <https://www.researchgate.net/publication/357810543>

## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat Permohonan Izin Penelitian



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN & PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

UMSU Terakreditasi A Berdasarkan Keputusan Badan Akreditasi Nasional Perguruan Tinggi No. 89/SK/AN-PT/Akred/P.T/2019  
 Jl. Gedung Arca No. 53 Medan, 20217 Telp. (061) - 7350163, 7333162, Fax. (061) - 7363488

Umum | Cerdas | Terpercaya

Website: <https://fk.umsu.ac.id> Email: [fk@umsu.ac.id](mailto:fk@umsu.ac.id) Instagram: @umsumedan Facebook: umsumedan YouTube: umsumedan

Nomor : 1/IL3.AU/UMSU-08/F/2025  
 Lampiran : -  
 Perihal : **Permohonan Izin Penelitian**

Medan, 1 Sya'ban 1446 H  
 2 Januari 2025 M

Kepada Yth.  
**Kepala Bagian Lab. Mikrobiologi**  
**FK-KMK UGM**  
 di-  
 Tempat

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Dengan hormat, dalam rangka penyusunan Tesis mahasiswa magister ilmu biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara (FK UMSU) Medan, maka kami mohon bantuan Bapak/Ibu untuk memberikan informasi, data dan fasilitas seperlunya kepada mahasiswa kami yang akan mengadakan penelitian sebagai berikut :

Nama : **Nurlina Setiadi**  
 NPM : **2208330005**  
 Judul Penelitian : **Analisis konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* melalui metode Microplate Resazurin (REMA) secara *in-vitro***

Demikianlah hal ini kami sampaikan, atas kerjasama yang baik kami ucapkan terima kasih. Semoga amal kebaikan kita diridhai oleh Allah SWT. Amin.

*Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*



Dekan,  
  
**Dr. Siti Masluma Siregar, Sp.THT-KL(K)**  
 NIDN. 0106098201

Tembusan Yth :  
 1. Wakil Dekan UJ FK UMSU  
 2. Adhuc KTI FK UMSU  
 3. Penanggung

## Lampiran 2. Lembar Persetujuan Etik Penelitian



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA  
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
**DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL**  
**"ETHICAL APPROVAL"**  
No : 1575/KEPK/FKUMSU/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :  
*The Research protocol proposed by*

Peneliti Utama : dr. Nurlina Setiadi  
*Principal in investigator*

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara  
*Name of the Institution Faculty of Medicine University of Muhammadiyah of Sumatera Utara*

Dengan Judul  
*Title*

**"ANALISIS KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum*) TERHADAP BAKTERI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS MELALUI METODE RESAZURIN MICROTITER ASSAY (REMA) SECARA IN-VITRO"**

**"ANALYSIS OF THE MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF ETHANOLIC EXTRACT OF BASIL LEAVES (*Ocimum basilicum*) AGAINST MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS USING THE RESAZURIN MICROTITER ASSAY (REMA) METHOD IN VITRO"**

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah  
3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan  
7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

*Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assesment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guadelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard*

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 06 Agustus 2025 sampai dengan tanggal 06 Agustus 2026  
*The declaration of ethics applies during the periode Agustus 06, 2025 until Agustus 06, 2026*

Medan, 06 Agustus 2025  
Ketua  
  
Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

### Lampiran 3. Pelabelan Senyawa Uji

Plate 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A Q U A D E S T	AQUADEST										A Q U A D E S T
B		K (M)	KMG 2,5 1	KMG 1,25 1	KMG 0,625 1	K (S) 1	K (S) 1	RIF 2 1	RIF 2 2	RIF 2 3	K (B)	
C		K (M)	KMG 2,5 2	KMG 1,25 2	KMG 0,625 2	K (S) 2	K (S) 2	RIF 1 1	RIF 1 2	RIF 1 3	K (B)	
D		K (M)	KMG 2,5 3	KMG 1,25 3	KMG 0,625 3	K (S) 3	K (S) 3	RIF 0,5 1	RIF 0,5 2	RIF 0,5 3	K (B)	
E		K (M)						RIF 0,25 1	RIF 0,25 2	RIF 0,25 3	K (P)	
F		K (M)						RIF 0,125 1	RIF 0,125 2	RIF 0,125 3	K (P)	
G		K (M)						RIF 0,0625 1	RIF 0,0625 2	RIF 0,0625 3	K (P)	
H		AQUADEST										

**Lampiran 4. Lembar Hasil Penelitian**

**UNIVERSITAS GADJAH MADA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT, DAN KEPERAWATAN**  
**DEPARTEMEN MIKROBIOLOGI**  
Jln. Farmako, Sekip Utara, Yogyakarta, Telp. (0274) 580297, Hp.0811 2511 293  
web: <http://microbiol.fk.ugm.ac.id>, e-mail: [bm.fk@ugm.ac.id](mailto:bm.fk@ugm.ac.id)

Nomor : 123/UN1/FK-KMK.2/MIK/PT/2025  
Lampiran : 1 bendel  
Hal : Hasil Uji Mikrobiologi

21 April 2025

Yth. dr. Nurlina Setiadi  
Universitas Muhammadiyah Sumatra Utara  
Fakultas Kedokteran  
Di Sumatra Utara

Bersama ini kami kirimkan hasil penelitian Analisis Anti tuberculosis dengan metode REMA sebanyak 1 sampel (terlampir).

Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.



Ketua,

Prof. dr. Titik Nuryastuti, M.Si, PhD, Sp. MK(K)  
NIP: 19720513 199702 2 001



**UNIVERSITAS GADJAH MADA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT DAN KEPERAWATAN**  
**DEPARTEMEN MIKROBIOLOGI**  
 Jin. Farmako, Sekip Utara Yogyakarta, Telp./ Fax: (0274) 580297, 00112511293 E-mail : mimkrobiologifkugm@yahoo.com Yogyakarta


### HASIL MIC

NO	NAMA SENYAWA	MIC
1	Ekstrak Etanol Daun Kemangi (KMG)	Kontaminasi
2	Rifampicin	<0.0625 µg/ml




Laboran


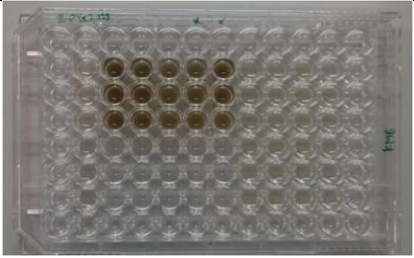
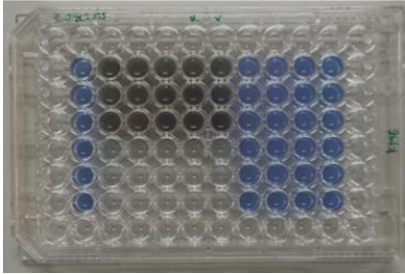
  
 Edo Ermanda Romadhoni

Ketua Departemen,

  
 Prof. dr. Titik Nuryastuti, M.Si Ph.D, SpMK(K)

### Lampiran 5. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

No	Tanggal	Kegiatan	Dokumentasi
1.	21 September 2024	Proses penghalusan daun kemangi kering	
2.	21 September 2024	Proses penyaringan serbuk simplisia	
3.	21 September 2024	Proses pengadukan yang dilakukan selama 3 hari setiap 6 jam	
4.	25 September 2024	Proses maserasi ekstrak dalam vacum <i>rotary evaporator</i> untuk memisahkan zat pelarut dari zat terlarut	

5.	25 September 2024	Didapatkan ekstrak etanol daun kemangi kental	
6.	9 April 2025	Pengontakan larutan senyawa dengan bakteri Mtb H37RV	
7.	16 April 2025	Penambahan Resazurin ke masing-masing sumuran	
8.	17 April 2025	Pengamatan warna	