

**ANALISIS *Liquid Chromatography-Mass Spectrometer* (LC-MS)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
DAUN JINTEN (*Plectranthus amboinicus*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI



**OLEH:
AYU INSA FAJRI
1813206004**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2022**

**ANALISIS *Liquid Chromatography-Mass Spectrometer* (LC-MS)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
DAUN JINTEN (*Plectranthus amboinicus*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar
Sarjana Farmasi (S.Farm.) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



**OLEH: AYU INSA FAJRI
1813206004**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2022**

**ANALISIS *Liquid Chromatography-Mass Spectrometer* (LC-MS)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
DAUN JINTEN (*Plectranthus amboinicus*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:

AYU INSA FAJRI

1813206004

Telah lolos uji etik penelitian dan pertahankan dihadapan Panitia Skripsi
Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

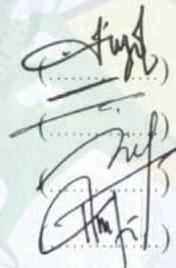
Tanggal:

Ketua Penguji : Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc

Anggota Penguji : 1. apt. Choirul Huda, M.Farm

2. apt. Arif Santoso, M.Farm

3. Afidatul Muadifah, S.Si., M.Si



Mengetahui

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa



apt. Arif Santoso, M.Farm

**ANALISIS *Liquid Chromatography-Mass Spectrometer* (LC-MS)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
DAUN JINTEN (*Plectranthus amboinicus*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

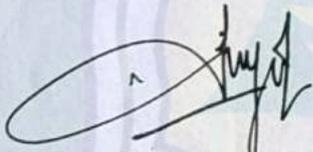
SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

AYU INSA FAJRI
1813206004

Telah disetujui oleh:

Pembimbing utama,



Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc
NIDN. 07 100291 01

Pembimbing Pendamping,



Apt. Choirul Huda, M.Farm
NIDN. 07 260385 02

PERNYATAAN

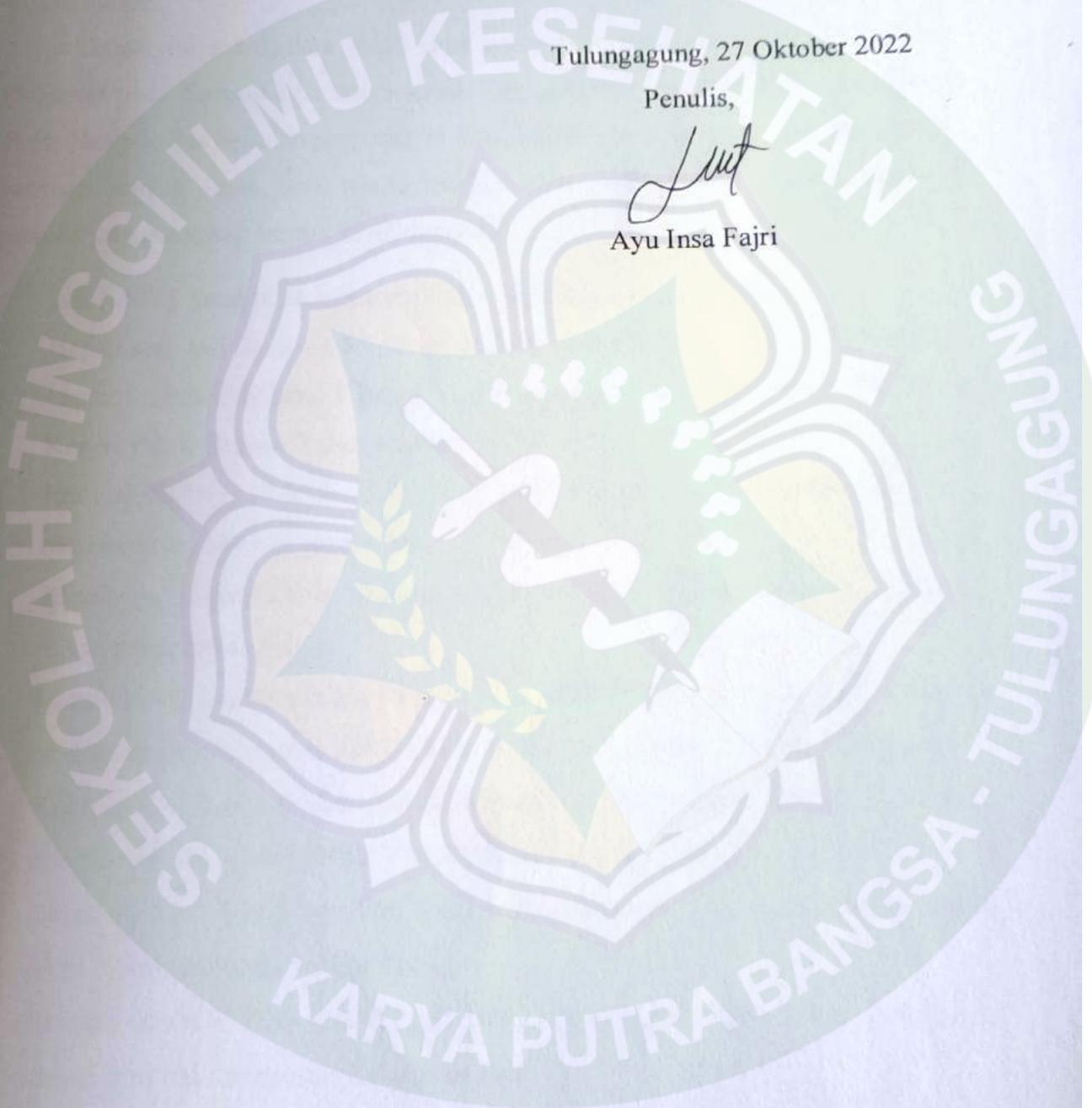
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diberikan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, 27 Oktober 2022

Penulis,



Ayu Insa Fajri



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Analisis *Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS)* Senyawa Hasil Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*” ini dengan baik meskipun banyak kekurangan di dalamnya.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa. Penyusunan proposal ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa bantuan banyak pihak, baik secara moril maupun materiil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah mengabulkan semua doa serta hajat saya.
2. Bapak apt. Arif Santoso, M. Farm selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa.
3. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm selaku Kprodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
4. Ibu Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc selaku pembimbing pertama saya yang membimbing saya dengan sabar.
5. Bapak apt. Choirul Huda, M.Farm selaku pembimbing kedua saya yang dengan sabar membimbing saya.
6. Kedua orang tua yang telah membiayai perkuliahan serta senantiasa memberi semangat dan dukungan di kala lelah dari awal sampai akhir pendidikan.
7. Keluargaku khususnya dari kakakku Endri Styohandayani dan Nuril Atika Suri beserta suaminya yang telah memberikan dukungan dengan baik.
8. Suamiku Rico Nur Ubaidilah yang telah rela mendengarkan keluh kesahku serta dukungan yang sangat baik.
9. Seluruh dosen STIKes Karya Putra Bangsa yang telah mendidik saya dari awal masuk sampai mengantar kelulusan saya.
10. Teman-teman seperjuangan program studi S1 Farmasi angkatan 2018 yang selalu bersama, baik suka maupun duka dan telah membantu memberikan masukan hingga skripsi ini dapat terselesaikan

11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan dorongan dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak untuk perbaikan skripsi ini sangat diharapkan. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi pembaca dan menambah wawasan keilmuan bagi semua pihak. Terima kasih.

Tulungagung, 27 Oktober 2022

Penulis,

Ayu Insa Fajri



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Klasifikasi dan Deskripsi Tanaman Jinten (<i>Plectranthus amboinicus</i>).....	5
2.2 Kandungan Senyawa Daun Jinten	7
2.3 Simplisia.....	10
2.4 Metode Penyarian / Ekstraksi.....	13
2.5 Pemurnian	16
2.6 Bakteri.....	19
2.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.8 Antibakteri.....	21
2.9 Uji Aktivitas Antibakteri.....	23
2.10 Obat Golongan Antibakteri	26
2.11 Liquid Chromatography Mass Spectrometer (LC-MS).....	26
2.11 Hipotesis.....	28
BAB III.....	30
METODE PENELITIAN	30
3.1 Alat dan Bahan	30
3.2 Populasi penelitian.....	30
3.3 Sampel penelitian	30
3.4 Variabel penelitian.....	30
3.5 Metode Penelitian	31
3.6 Analisis Statistika	37
3.7 Uji Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS).....	38
BAB IV	42
4.1 Determinasi Tanaman	42
4.2 Pembuatan Simplisia	42
4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	43
4.4 Pembuatan Ekstrak Jinten.....	44
4.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	44
4.5.1 Uji Bebas Etanol.....	44
4.6 Skrining Fitokimia	45
4.9 Identifikasi LC-MS (liquid Chromatography-Mass Spectrometri) ...	50
4.10 Analisis Statistika	53
BAB IV	56
5.1 Kesimpulan.....	56
5.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57

DAFTAR GAMBAR

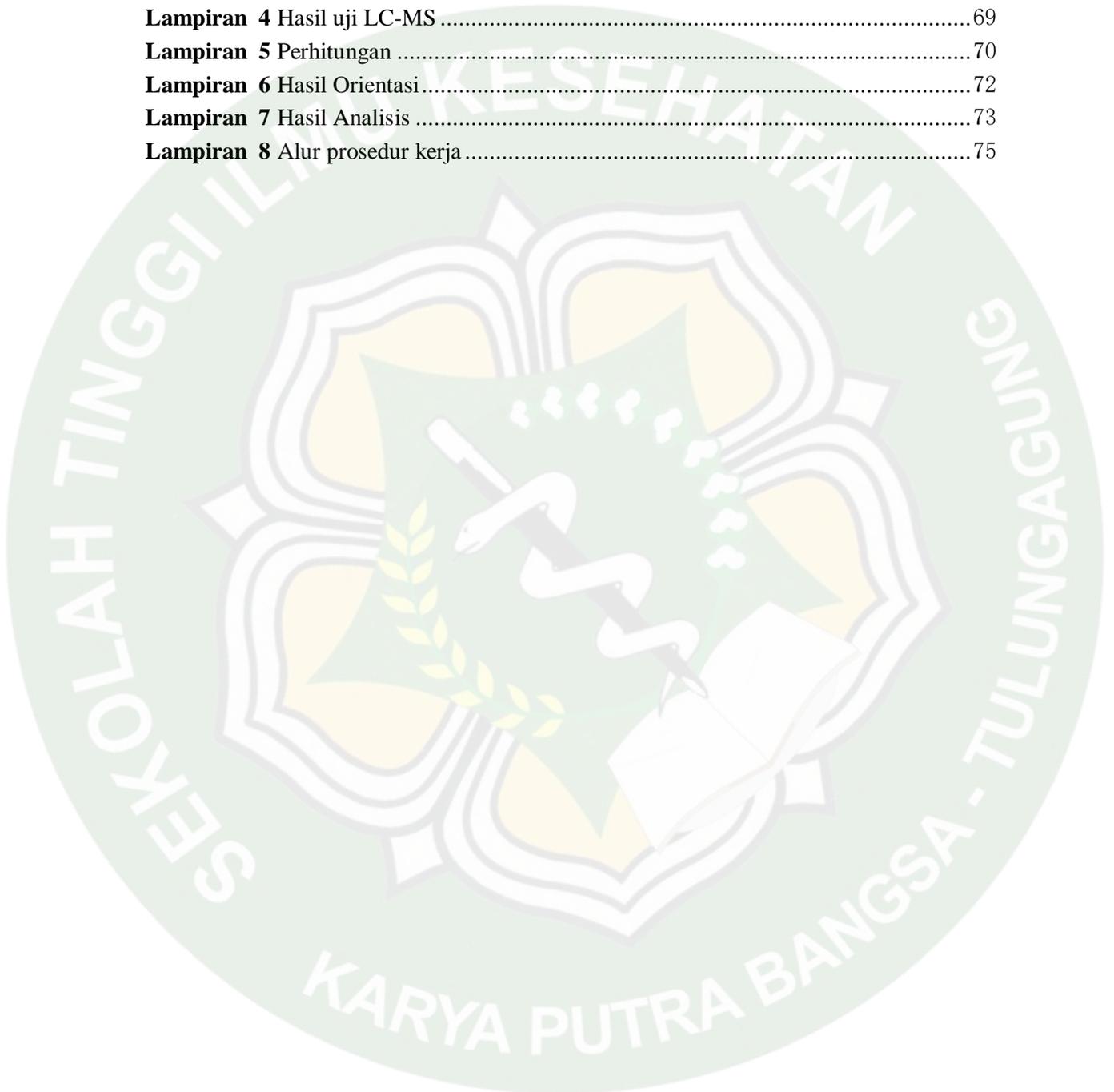
Gambar 4. 1 Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Jinten	46
Gambar 4. 2 Grafik rata-rata dari zona hambat uji antibakteri	49
Gambar 4. 3 Hasil <i>cromatogram</i> dari LC-MS (<i>liquid Chromatrography-Mass Spectrometri</i>)	51
Gambar 4. 4 Hasil <i>mass spectrometri</i> struktur senyawa kaempferol 3-(6"	51
Gambar 4. 5 Hasil struktur senyawa senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1 2)galactosyl-(1 2)-glucoside	51
Gambar 4. 6 hasil <i>mass spectrometri</i> Senyawa kaempferol 3-(6"- caffeoylglucoside).....	
Gambar 4. 7 Senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1 2)galactosyl-(1 2)- glucoside	52

DAFTAR TABEL

tabel 4. 1 Hasil uji susut pengeringan dari daun jinten (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	43
tabel 4. 2 Hasil uji kadar air dari serbuk simplisia daun jinten (<i>Plectranthus amboinicus</i>).	43
tabel 4. 3 Hasil uji bebas etanol dari daun jinten	45
tabel 4. 4 Hasil uji rendemen ekstrak daun jinten	45
tabel 4. 5 Hasil skrining fitokimia	46
tabel 4. 6 Diameter zona hambat antibakteri fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (<i>Plectranthus amboinicus</i>) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	49
tabel 4. 7 Hasil uji normalitas data	53
tabel 4. 8 Hasil uji homogenitas	53
tabel 4. 9 Hasil uji One Way ANOVA	54
tabel 4. 10 Hasil tukey test	54
tabel 4. 11 Hasil uji post hoc	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Determinasi tanaman daun jinten	64
Lampiran 2 Sertifikat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Lampiran 3 Dokumentasi penelitian	66
Lampiran 4 Hasil uji LC-MS	69
Lampiran 5 Perhitungan	70
Lampiran 6 Hasil Orientasi.....	72
Lampiran 7 Hasil Analisis	73
Lampiran 8 Alur prosedur kerja	75



**ANALISIS *Liquid Chromatography-Mass Spectrometer* (LC-MS) SENYAWA
HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN JINTEN (*Plectranthus
amboinicus*) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

Ayu Insa Fajri

S1 Farmasi

INTISARI

Tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*) merupakan salah satu tanaman yang dapat dijadikan antibakteri karena mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri hasil fraksi etil asetat daun jinten terhadap bakteri *staphylococcus aureus*, mengetahui konsentrasi fraksi etil asetat daun jinten yang memiliki zona hambat paling kuat terhadap aktivitas antibakteri bakteri *staphylococcus aureus* dan mengetahui komposisi senyawa-senyawa yang terdapat dalam hasil fraksinasi ekstrak daun jinten. Daun jinten diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% serta dilakukan proses fraksinasi menggunakan pelarut aquades, n-heksan dan etil asetat. Ekstrak dari fraksi etil asetat dilakukan skринning fitokimia terdapat hasil positif terhadap senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Selanjutnya dilakukan analisis *liquid chromatography-mass spectrometer* (LC-MS) mendapatkan 2 puncak tertinggi yang merupakan tergolong sebagai senyawa flavonoid. Uji aktifitas antibakteri dilakukan metode difusi cakram kertas dengan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO5%. Uji antibakteri pada fraksi etil asetat ekstrak daun jinten dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan konsentrasi 15%, 20%, dan 25 yang dilakukan dengan 3 kali replikasi. Konsentrasi 15% diperoleh rata-rata sebesar 16,8mm, konsentrasi 20% diperoleh rata-rata 23,1mm. Konsentrasi 25% diperoleh rata-rata sebesar 19,6mm, hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak daun jinten terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki zona hambat paling optimum pada konsentrasi 20% dengan rata-rata 23,1mm. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi rendah yang memiliki zona hambat tinggi dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian dilakukan analisis statistika, pada uji ANOVA mendapatkan hasil 0,00 nilai tersebut kurang dari 0,05 berdasarkan hal tersebut terdapat pengaruh variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun jinten yang signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci : daun jinten, antibakteri, flavonoid, *Staphylococcus aureus*

ANALYSIS of Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS)

COMPOUND RESULTS FROM ETIL ACETATE EXTRACT

CUMIN LEAVES (*Plectranthus amboinicus*) AS

ANTIBACTERIA *Staphylococcus aureus*

Ayu Insa Fajri

S1 Farmasi

ABSTRACT

*Cumin leaves (*Plectranthus amboinicus*) is one of the plants that can be used as antibacterial because it contains flavonoid compounds, saponins, tannins and alkaloids. This study aims to determine the antibacterial activity of the ethyl acetate fraction of cumin leaves against staphylococcus aureus bacteria, to determine the concentration of the ethyl acetate fraction of cumin leaves which has the strongest inhibition zone against the antibacterial activity of staphylococcus aureus bacteria and to determine the composition of the compounds contained in the fractionated leaf extract. cumin. Cumin leaves were extracted using the maceration method with 96% ethanol solvent and the fractionation process was carried out using aquades, n-hexane and ethyl acetate as solvents. Extracts from the ethyl acetate fraction were screened for phytochemicals and there were positive results for flavonoid compounds, alkaloids, saponins and tannins. Furthermore, liquid chromatography-mass spectrometer (LC-MS) analysis was performed to obtain the 2 highest peaks which are classified as flavonoid compounds. Antibacterial activity test was carried out using paper disc diffusion method with positive control of chloramphenicol and negative control of DMSO5%. Antibacterial tests on the ethyl acetate fraction of cumin leaf extract with *Staphylococcus aureus* were carried out at concentrations of 15%, 20%, and 25 with 3 replications. A concentration of 15% obtained an average of 16.8mm, a concentration of 20% obtained an average of 23.1mm. Concentration of 25% obtained an average of 19.6mm, it shows that the ethyl acetate fraction of cumin leaf extract against *Staphylococcus aureus* bacteria has the most optimum inhibition zone at a concentration of 20% with an average of 23.1mm. This concentration is a low concentration which has a high inhibition zone and is able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. Then statistical analysis was carried out, the ANOVA test got the results of 0.00 the value was less than 0.05 based on this there was a significant effect of variations in the concentration of the ethyl acetate fraction of cumin leaves on *Staphylococcus aureus*.*

Keywords: cumin leaves, antibacterial, flavonoids, Staphylococcus aureus

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Indonesia terkenal dengan kekayaan alam dengan memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat (Bahriul *et al.*, 2014). Seiring berkembangnya zaman, penggunaan obat tradisional mulai ditinggalkan. Terjadi pergeseran penggunaan obat tradisional menjadi obat sintetis dengan kemasan yang lebih praktis dan modern. Sementara ini banyak orang yang beranggapan bahwa penggunaan obat tradisional relatif lebih aman dibandingkan obat sintetis (Setiari *et al.*, 2019). Menurut Promono (2002) dalam penelitiannya menyatakan bahwa dibandingkan obat-obatan modern, penggunaan obat tradisional memiliki beberapa kelebihan antara lain: memberikan efek samping yang lebih sedikit, dan dalam suatu ramuan dengan komponen yang berbeda memiliki efek saling mendukung. Adapun bagian-bagian yang biasa digunakan oleh masyarakat dan diolah sebagai obat tradisional yaitu akar, batang, bunga, buah, rimpang dan daun (BPOM, 2005).

Daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan masyarakat secara luas sebagai bahan obat tradisional berbagai penyakit, masyarakat mengenal tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebagai tanaman bangun-bangun atau torbangun yang memiliki lama hidup sekitar 3 sampai 10 tahun. Tanaman jinten merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Afrika, Asia, dan Australia. Dimana tanaman jinten memiliki daun yang berambut sedikit kasar, mudah patah dan patahan dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) mudah ditumbuhi akar (Lailatul *et al.*, 2013). Pemanfaatan untuk pengobatan menjadikan daun jinten sebagai tanaman yang banyak tumbuh di pekarangan rumah (Wadikar, 2016). Hasil penelitian yang dilakukan Muniroh (2013) menyebutkan bahwa ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan, antiradang, antibakteri, antikanker seperti flavonoid, saponin, polifenol, minyak atsiri, alkaloid yang termasuk ke dalam senyawa metabolit sekunder.

Metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang terkandung dalam daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) merupakan senyawa yang dapat dimanfaatkan dalam penyembuhan. Terutama senyawa flavonoid menurut

penelitian Rijayanti et al., (2014) yang bersifat bakteristatik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, dengan mekanisme kerja menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA, merusak membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi. Daun jinten dapat menyembuhkan penyakit seperti halnya infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, dimana bakteri tersebut dapat ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (J.Ryan & Ray, 2010). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur, berbentuk seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (Brooks, 2013).

Mendapatkan ekstrak pekat dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) peneliti harus melakukan ekstraksi yang paling sederhana yaitu menggunakan metode maserasi, yang berarti merendam dalam bahasa latin *macere*, sedangkan maserasi sendiri secara luas merendam suatu obat yang berbentuk halus serta memungkinkan untuk direndam dalam menstrum dapat meresap, sehingga zat-zat yang mudah larut akan terlarut (Amelia, 2014). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar peristiwa tersebut berulang hingga terjadi keseimbangan (Prawirodihardjo, 2014).

Beberapa penelitian tentang daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) sudah dilakukan diantaranya yaitu: penelitian Ika (2020) tentang ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebagai antikanker dengan menggunakan metode BST. Menurut Agustianasari, I (2015) dalam penelitiannya menyatakan bahwa biji daun jinten memberikan hasil antibakteri dengan zona hambat lebih baik dari hasil fraksi etil asetat dibandingkan dengan fraksi aquadest dan n-heksan. penelitian Bagus (2011) tentang isolasi dan analisis komponen minyak atsiri dari daun jinten (*Coleus*

Aromatikus Benth) dengan GC-MS dan uji antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* (681 mm), *Streptococcus mutan* (859 mm), *Salmonella typhi* (651 mm) dan *Eschericia coli* (696 mm). Penelitian yang dilakukan Muniroh (2013) tentang efek anti radang dan toksisitas akut ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan metode ekstraksi menggunakan maserasi. Dari hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak daun jinten dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, ini dapat dilihat bahwa dari keempat bakteri tersebut, dimana indeks anti mikrobial (IAM) sangat baik (Sinulingga, 2011). Analisis senyawa menggunakan LC-MS terhadap fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*plectranthus amboinicus*) belum dilakukan. Adapun kelebihan LC-MS yaitu spesifitas, aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis, fleksibilitas, kaya informasi (Vogeser & Seger, 2008).

Berdasarkan latar belakang diatas maka penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dan konsentrasi efektif daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang mewakili dari gram positif dan mengetahui senyawa penyusun fraksi. Dengan demikian penelitian ini berjudul **“Analisis Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LCMS) Senyawa Hasil Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*”**

1.2 Rumusan masalah

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antibakteri hasil fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus*?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang memiliki zona hambat paling kuat terhadap aktivitas antibakteri bakteri *staphylococcus aureus*?
- 1.2.3 Komposisi senyawa-senyawa apa saja yang terdapat dalam hasil fraksinasi ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*)?

1.3 Tujuan penelitian

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri hasil fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

1.3.2 Mengetahui konsentrasi fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang memiliki zona hambat paling kuat terhadap aktivitas antibakteri bakteri *staphylococcus aureus*.

1.3.3 Mengetahui komposisi senyawa-senyawa yang terdapat dalam hasil fraksinasi ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi peneliti

Peneliti diharapkan dapat mengetahui komponen berupa senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri.

1.4.2 Bagi instansi

Peneliti diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terhadap instansi terkait konsentrasi pada daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) untuk mengetahui zona hambat optimum dan tentang hasil pengujian yang dilakukan terkait kandungan senyawa pada daun jinten serta efektivitasnya sebagai antibakteri.

1.4.3 Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi yang digunakan sebagai antibakteri, sehingga masyarakat dapat mengetahui kegunaan atau manfaat daun jinten.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Jinten termasuk dalam tanaman semak yang menjalar. Tumbuhan jinten (*Plectranthus amboinicus*) ini banyak tumbuh di Afrika, Asia, dan Australia. Di wilayah Indonesia tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*) banyak ditemukan di wilayah Sumatera, Bali dan Sulawesi. Masyarakat mengenal pohon jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebagai pohon bangun-bangun atau pohon torbangun yang memiliki lama hidup sekitar 3 sampai 10 tahun. Tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*) sudah terkenal dalam dunia kesehatan baik dalam dunia penelitian. Jinten (*Plectranthus amboinicus*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan, antibakteri, antiradang, antikanker seperti flavonoid, saponin, alkaloid, minyak atsiri, polifenol (Lailatul et al., 2013).

Masyarakat pada umumnya belum mengetahui tentang banyaknya manfaat tentang tumbuhan jinten. Menurut penelitian Dise (2015) Bahwasanya daun jinten dapat digunakan untuk pengobatan demam, sariawan dan reumatik. Daun jinten memiliki metabolit sekunder pada beberapa bagian tumbuhan terutama pada akar dan daunnya. Pada bagian daun mengandung flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid dimana flavonoid dan saponin merupakan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi (Widyaningrum, 2011). Pemanfaatan dalam pengobatan menjadikan daun jinten sebagai tanaman yang banyak tumbuh di pekarangan rumah (Wadikar, 2016).

2.1 Klasifikasi dan Deskripsi Tanaman Jinten (*Plectranthus amboinicus*)

Klasifikasi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) menurut (Sidabutar & Hutapea, 2020).

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermathophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales

Famili : Lamiaceae
Genus : *Plectranthus*
Species : *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng



Gambar 2. 1 Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*)
(dokumentasi pribadi, 2021)

Tanaman daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) merupakan tumbuhan herbal yang tumbuh selama 3-10 tahun yang dimana tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki tanaman yang memiliki batang berkayu lunak, bercabang, ramping, penampang bulat, memiliki ruas dengan diameter pangkal kurang lebih 15 mm, diameter tengah kurang lebih 10 mm, diameter ujung kurang lebih 5 mm dan untuk tinggi batang mencapai Panjang 20-30 cm. Sedangkan untuk daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang masih muda seperti pada Gambar 2.1 memiliki daun yang berambut sedikit kasar, mudah patah dan patahan dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) mudah ditumbuhi akar (Lailatul et al., 2013).

Tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki bunga yang majemuk, bentuk yang tandan, memiliki kelopak yang berbentuk mangkok, berwarna hijau keunguan, memiliki putik satu dan berwarna coklat pada bagian kepalanya. Tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*) juga memiliki buah yang berbentuk oval mengerombol dengan panjang buah antara 4smpai 5mm yang tiap buah mengandung satu biji. Biji buah jintan (*Plectranthus amboinicus*) memiliki bentuk yang menyerupai buah adas namun memiliki ukuran yang jauh lebih kecil dan berwarna gelap kehitaman. Akar tanaman jinten merupakan akar tunggang berwarna putih (Syamsuhidayat & Hutapea, 1991).

2.2 Kandungan Senyawa Daun Jinten

Tumbuhan menghasilkan berbagai metabolit primer maupun sekunder. Metabolit primer yaitu yang dihasilkan dari proses metabolisme primer seperti protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. Metabolit primer dibutuhkan oleh tumbuhan untuk tumbuh dan berkembang, sedangkan metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan untuk bertahan dalam lingkungan.

Metabolit yang telah dihasilkan oleh tumbuhan dimanfaatkan manusia dengan berbagai tujuan. Seperti halnya protein, lemak, karbohidrat yang dihasilkan tumbuhan telah dimanfaatkan sebagai bahan pangan, sedangkan metabolit sekunder yang dimana setiap tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda-beda dimanfaatkan manusia sebagai obat dan pewarna (Silalahi, 2018).

Tanaman daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) telah banyak dilakukan penelitian karena terkenal dengan banyak manfaatnya dan mampu dikembangkan menjadi obat herbal karena daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) mengandung banyak metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas farmakologi dalam mengatasi berbagai penyakit. Pemanfaatan dalam pengobatan menjadikan daun jinten sebagai tanaman yang banyak tumbuh di pekarangan rumah (Wadikar, 2016). Berdasarkan hasil penelitian menyatakan bahwa daun tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*) mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, alkaloid, minyak atsiri (Lailatul et al., 2013). Dalam penelitiannya Widyaningrum (2011) menyatakan bahwa flavonoid dan saponin merupakan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan sebuah senyawa yang terdapat pada tanaman yang mempunyai struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ yang tersusun oleh 15 atom karbon sebagai inti dasarnya (Prawirodihardjo, 2014). Flavonoid adalah senyawa yang paling kuat dan sebagai antioksidan paling efektif digunakan pada manusia. Kegunaan flavonoid sebagai antioksidan, anti aterosklerosis, antiplatelet, antivirus, antiinflamasi, antiarthritis, antidiare, antikanker, dan antibakteri (Pawarta et al., 2019). Senyawa ini merupakan sebuah zat berwarna merah, ungu, dan biru serta Sebagian ditemukan pada tumbuhan dengan zat berwarna kuning (Prawirodihardjo, 2014).

Flavonoid merupakan senyawa polar, umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dimetilformamida, aseton, dimetil-air, sulfoksida, dan lain-lain (Markham, 1988). Suhu 50 °C merupakan suhu yang relatif aman untuk mencegah kerusakan pada senyawa metabolit khususnya flavonoid. Sistem aromatik terkonjugasi merupakan senyawa fenol yang terkandung dalam flavonoid. Sistem aromatic terkonjugasi pada suhu tinggi mudah rusak dan golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula yang mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Oktavia, 2011). Flavonoid bersifat bakteriostatik karena adanya reaksi dari suatu senyawa kimia. Flavonoid sebagai antibakteri memiliki 3 mekanisme kerja yaitu menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA, merusak membran sitoplasma bakteri dan menghambat metabolisme energi (Rijayanti et al., 2014).

Flavonoid dapat merusak membran sitoplasma senyawa tersebut menyebabkan bocornya metabolit penting dan dapat mengaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan membran sitoplasma dapat menyebabkan nukleotida dan asam amino keluar, mencegah bahan-bahan aktif masuk kedalam sel sehingga menyebabkan kematian bakteri (Prasko et al., 2015). Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan menghambat sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme dapat terhambat dan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri sehingga bakteri akan mati (Rijayanti et al., 2014). Flavonoid menghambat fungsi membran sel, membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri, diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria et al., 2009).

2.2.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung paling sedikit satu buah atom nitrogen dan berasal dari bagian cincin heterosiklik yang memiliki sifat basa (Lenny, 2018). Alkaloid pada tanaman dapat berbentuk amin, primer, sekunder, tersier maupun kuartar dan bentuk tersebut yang menentukan kebiasaan alkaloid. Beberapa senyawa alkaloid bersifat racun untuk organisme lain (Septia Ningsih et al., 2020). Alkaloid bebas biasanya tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam

pelarut organik yang bersifat semi polar (eter, benzena, kloroform). Dalam bentuk garamnya, alkaloid mudah larut dalam pelarut organik polar (Perawati et al., 2020). Alkaloid yang telah diisolasi berupa padatan kristal tidak larut dengan titik lebur yang tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Sedikit alkaloid memiliki bentuk amorf, nikotin dan koniin berupa cairan. Sebagian besar alkaloid tidak berwarna, tetapi beberapa senyawa yang kompleks, spesies aromatik berwarna (contoh berberin berwarna kuning dan betanin berwarna merah). Alkaloid bersifat basa, sifat tersebut tergantung adanya pasangan elektron pada nitrogen. Sifat basa alkaloid menyebabkan senyawa tersebut sangat mudah mengalami dekomposisi, terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen (Pranata, 1997). Menurut Eleanore senyawa alkaloid mempunyai sifat fisik kurangnya panas. Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen yang akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga sel akan mengalami kerusakan dan mendorong terjadinya lisis bakteri yang menyebabkan kematian sel bakteri (T. S. Gunawan & Christianto, 2020).

2.2.3 Saponin

Saponin mempunyai rumus molekul $C_{27}H_{42}O_3$ dan mempunyai titik didih yang sangat tinggi, sampai mencapai $158^{\circ}C$. Saponin disebut juga *nonvolatilem* dan sangat larut dalam air panas ataupun dingin serta alkohol, tetapi membentuk busa koloidal dalam air dan mempunyai sifat deterjen yang baik (Zalfiatri et al., 2018).

2.2.4 Tanin

Senyawa tanin merupakan senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH. Tanin mempunyai titik didih $1271^{\circ}C$, tanin merupakan suatu golongan senyawa polifenol yang banyak dijumpai pada tanaman (Ergina et al., 2014). Umumnya tanin tersebar pada bagian tanaman spesifik seperti pada bagian kulit kayu, batang, daun, serta buahnya. Tanin mempunyai khasiat sebagai astringent, antidiare, antibakteri, antioksidan, dan antihiperurisemia (Diana et al., 2019).

Identifikasi tanin dapat dilakukan dengan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hitam hijau (Malik et al., 2016). Senyawa tanin juga dapat diuji menggunakan larutan fenozon. Bila muncul endapan maka sampel mengandung tannin (Hargono et al., 2021).

Sifat fisika dari tanin apabila dilarutkan kedalam air akan membentuk koloid dan memiliki rasa asam dan sepat, ketika dicampur dengan alkaloid dan gelatin akan terjadi endapan dan dapat mengendapkan protein dari larutannya. Sifat kimia dari tanin merupakan senyawa kompleks dalam bentuk campuran polifenol yang sukar dipisahkan, sukar mengkristal, dapat diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi, senyawa fenol dari tanin mempunyai aksi adstringensia, antiseptik dan pemberi warna (Ploutz et al., 1990). Tanin dapat larut dalam air, metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin memiliki kelarutan yang besar, akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Tanin dapat terurai menjadi *pyrogallol*, *pyrocatechol* dan *phloroglucinol* jika dipanaskan sampai suhu $99-102^\circ\text{C}$ (Risnasari, 2002). Senyawa tanin dapat larut dalam pelarut polar dan tidak dapat larut dalam pelarut non polar (Roderick, 1963).

Tanin sebagai antibakteri memiliki mekanisme kerja menyebabkan dinding sel bakteri menjadi lisis, sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi terhambat dan sel bakteri mati. Tanin dapat menginaktifkan enzim pada bakteri dan mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Ngajow et al., 2013).

2.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan (Depkes RI., 2000). Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM, 2014).

2.3.1 Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman ialah isi sel yang secara spontan keluar dari

tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya (RI, 2014).

2.3.2 Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (RI, 2014).

2.3.3 Simplisia pelikan (mineral)

Simplisia pelikan adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI., 2000).

2.3.4 Syarat-syarat Simplisia

Simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu:

1. Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.
2. kadar air, harus kurang dari 10%.
3. Adanya keseragaman bobot.
4. Tidak ada cemaran mikroba sesuai dengan nilai yang telah ditentukan.
5. Bahan tambahan pada simplisia, tidak diperbolehkan mengandung pengawet, pewarna, dan pengharum. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (BPOM, 2010).

2.3.5 Persiapan Simplisia

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut:

1. Pengumpulan bahan baku: kadar senyawa aktif simplisia berbeda-beda tergantung, bagian tanaman yang akan digunakan, umur tanaman saat panen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.
2. Sortasi basah: dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotor lain yang harus dibuang.
3. Pencucian: dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya mata air, air sumur atau air PAM. Pencucian dilakukan tiga kali, satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba, pencucian

dilakukan tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal 42% dari jumlah mikroba awal.

4. Perajangan: proses tersebut untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan pada simplisia.
5. Pengeringan: dilakukan untuk menghasilkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik pada simplisia sehingga mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia.
6. Sortasi kering: tujuannya untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering sebelum simplisia dibungkus untuk disimpan.
7. Pengepakan dan penyimpanan: hal yang harus diperhatikan saat penyimpanan simplisia yaitu cara pengepakan, pembungkusan, persyaratan Gudang penyimpanan simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu simplisia (Depkes RI., 2000).

2.3.6 Penghalusan Simplisia

Pembuatan serbuk simplisia dari simplisia utuh yang sudah dikeringkan atau potongan-potongan halus melalui pembuatan serbuk dengan alat tanpa terjadi kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu. Serbuk simplisia memiliki derajat kehalusan terdiri dari serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus. Kecuali dinyatakan lain, derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan serbuk simplisia halus seperti tertera pada pengayak dan derajat halus serbuk (Depkes RI., 2000). Ekstraksi akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Dengan demikian maka makin halus serbuk simplisia seharusnya makin baik ekstraksinya (RI, 2014).

Menurut Sapri *et al* rendemen ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang dihasilkan pada ukuran serbuk 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh yaitu semakin besar nomor mesh yang digunakan dalam pengayakan simplisia semakin besar pula rendemen yang dihasilkan. Sehingga serbuk simplisia ukuran

80 mesh menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi. Ukuran serbuk simplisia berpengaruh terhadap rendemen ekstrak yang diperoleh. Semakin kecil ukuran serbuk simplisia, maka semakin besar rendemen ekstrak.

2.4 Metode Penyarian / Ekstraksi

Penyarian atau ekstraksi merupakan proses pemisahan dan juga pemindahan massa aktif yang semula didalam sel ditarik keluar oleh pelarut, sehingga zat-zat yang terlarut akan terpisah dengan bahan-bahan yang tidak terlarut (Prawirodihardjo, 2014). Simplisia mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia seperti golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI., 2000).

2.4.1 Maserasi

Maserasi merupakan cara yang sederhana, maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar peristiwa tersebut berulang hingga terjadi keseimbangan (Prawirodihardjo, 2014).

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi, sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut (Guenther et al., 1987). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar, tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen ekstrak, dan titik didih kedua bahan tidak boleh terlalu dekat (Bernasconi, G., 1995).

Proses maserasi dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dan dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Ekstraksi maserasi memiliki kelemahan membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27 °C).

Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Depkes RI., 2000).

Kekurangan dari metode ini yaitu tidak semua bahan alam dapat diambil senyawanya, selain itu pelarut yang digunakan juga cukup banyak (Prawirodihardjo, 2014). Namun metode ini sangat menguntungkan karena peralatan yang mudah ditemukan, pengerjaannya yang sederhana dan senyawa yang bersifat termostabil akan terlarut dengan baik (Hargono, 2015). Senyawa termostabil dapat terlarut dengan baik karena adanya isolasi senyawa akibat pemecahan dinding atau membran sel, berdasarkan perbedaan tekanan didalam dan di luar sel sehingga membuat metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik secara sempurna. Senyawa yang dihasilkan dalam metode ini sangat baik karena lama perendamannya dapat diatur (Mardisiswoyo, 1965).

Modifikasi dari maserasi adalah remaserasi. Remaserasi menggunakan cairan penyari yang dibagi menjadi dua dan seluruh serbuk simplisia dimaserasi menggunakan cairan penyari pertama. Filtrat hasil maserasi pertama dimaserasi kembali dengan cairan penyari kedua (Depkes RI., 2000). Menurut penelitian Fauzana hasil rendemen metode remaserasi menghasilkan jumlah rendemen tertinggi pada kisaran nilai 15,60% - 16,70%. Metode maserasi menghasilkan rendemen terendah dengan kisaran nilai 12,20% - 12,60%. Pelarut metode remaserasi lebih banyak dan memperoleh nilai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan metode maserasi. Ekstraksi dengan metode remaserasi, residu pelarut yang digunakan merupakan pelarut baru, pelarut belum mengalami kejenuhan dan memiliki kemampuan mengekstrak lebih tinggi. Larutan jenuh merupakan larutan yang mengandung jumlah zat yang terlarut berlebihan pada suhu tertentu, sehingga kelebihan tersebut tidak dapat lagi melarut. Jenuh menandakan pelarut telah seimbang dengan zat terlarutnya atau larutan sudah tidak dapat melarutkan zat terlarut yang ditambahkan dan konsentrasi telah mencapai titik maksimal (ISI, 2017).

2.4.2 Perkolasi

Perkolasi merupakan proses pemisahan atau ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang dilakukan pada suhu ruangan. Proses terdiri dari

tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (Depkes RI., 2000). Istilah perkolasi berasal dari bahasa Latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes, secara umum dapat dinyatakan sebagai proses dimana obat yang sudah halus, zat yang larutnya diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewati perlahan-lahan melalui obat dalam suatu kolom. Cara perkolasi banyak dikerjakan pada ekstraksi obat (Ansel, 2005).

2.4.3 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada 3-5 kali sehingga dapat termasuk ekstraksi sempurna.

2.4.4 Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI., 2000). (Depkes RI., 2000). Bahan yang akan disari berada dalam sebuah kantong penyari (kertas, karton) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinu. Wadah gelas yang mengandung kantong diletakkan di antara labu suling dan suatu pendingin alir balik dan dihubungkan melalui pipa pipet. Labu tersebut berisi bahan pelarut yang menguap mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipa pipet, pelarut itu berkondensasi di dalamnya, menetes ke bahan yang disari. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimal secara otomatis ditarik ke dalam labu dengan demikian zat yang tersari terkumpul di dalam labu tersebut (Voigt, 1995)

2.4.5 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI., 2000). Simplisia yang akan di ekstrak sebanyak 30 gram dimasukkan ke dalam labu alas bulat, ditambahkan 300 mL etanol hingga merendam simplisia, rendaman simplisia dipanaskan dengan temperatur sesuai dengan titik didih pelarutnya yaitu 78 °C selama 30 menit, hasil penyarian diserkai

menggunakan kain kola. Ampas ditambah dengan 300 mL etanol dengan perlakuan yang sama dilakukan sebanyak 2 kali, filtrat kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C yang dilanjutkan dengan menggunakan waterbath sampai diperoleh ekstrak kental.

2.4.6 Infundasi

Infundasi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) didalam panci dan waktu mulai diukur selama 15-20 menit (Depkes RI., 2000). Ekstraksi ini dilakukan untuk mengekstrak zat yang kandungannya larut dalam air dari bahan- nabati. Ekstraksi dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh bakteri dan jamur (Anonim, 1986).

2.4.7 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^\circ\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI., 2000).

2.5 Pemurnian

2.5.1 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Menggunakan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa pada tanaman akan larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama, apabila kepolarannya berbeda akan terpisah (J. B. Harbone, 2006). Fraksinasi memiliki prinsip proses penarikan senyawa suatu ekstrak menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur. Pelarut yang digunakan pada umumnya yaitu n-heksan, etil asetat dan etanol. Pelarut n-heksan untuk menarik lemak dan senyawa non polar, diklorometana dapat menarik senyawa baik polar maupun non polar, sedangkan etanol untuk menarik senyawa polar. Senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar sedangkan senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar (Yasjudani, 2017).

2.5.2 Pelarut

Pelarut merupakan suatu zat yang berfungsi sebagai media penarik atau pengikat zat lain agar ikut terbawa oleh pelarut tersebut (Prawirodihardjo, 2014). Sebuah pelarut dapat dikatakan baik, apabila memiliki toksisitas yang rendah, dapat

mengawetkan, dapat menguap dengan mudah dan dapat mengekstraksi senyawa dengan mudah (Prawirodihardjo, 2014). Cairan pelarut adalah pelarut yang optimal untuk kandungan senyawa yang berkhasiat atau senyawa aktif, sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Faktor utama pertimbangan dalam pemilihan cairan penyari yaitu, selektivitas, kemudahan bekerja pada proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, keamanan (Depkes RI., 2000). Beberapa penelitian digunakan beberapa pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu air, methanol, etanol, kloroform, dan petroleum eter (Sudarmadji et al., 1997).

2.5.2.1 Air

Air memiliki bahasa latin *aquadestilata* yang berarti air suling. Air suling, air yang diperoleh dari pengembunan uap air akibat penguapan atau pendidihan air (Ham 2006). Air senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau dan tidak berasa yang memiliki titik didih 100°C (Chandra & Novalia, 2014). Air adalah pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air dapat melarutkan flavonoid yang tidak memiliki aktivitas signifikan terhadap antimikroba dan senyawa fenolat yang larut dalam air yang mempunyai aktivitas antioksidan (Tiwari et al., 2011).

Air digunakan sebagai pelarut memiliki harga murah, mudah diperoleh, tidak mudah menguap, dan tidak beracun. Kerugian pelarut air yaitu tidak dapat melarutkan semua zat berkhasiat yang dikehendaki, ekstrak dapat ditumbuhi kapang sehingga cepat rusak dan waktu pengeringan ekstrak memerlukan jangka waktu lama. Air dapat melarutkan garam alkaloid, glikosida, tanin, gom, pati, protein, dan asam organik (RI, 2014).

2.5.2.2 Etanol

Etanol (C_2H_5OH) memiliki nama lain etil alkohol, hidroksietana, alkohol murni, dan alkohol absolut. Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan ke elektro negatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil (C_2H_5) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan

molekul non polar. Oleh karena itu, etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non-polar. Etanol memiliki titik didih $78,40^{\circ}\text{C}$, dan tidak berwarna. Etanol 96 % merupakan pelarut terbaik untuk senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti flavonoid, saponin dan alkaloid (Astarina et al., 2013). Etanol 96% menghasilkan rendemen ekstrak paling besar sebanyak 38,2167%, hal tersebut menunjukkan etanol 96% memiliki kemampuan mengekstrak senyawa yang lebih baik. Semakin tinggi konsentrasi pelarut semakin besar kadar senyawa yang tertarik dalam pelarut.

2.5.2.3 N-heksana

Karakteristik heksana sangat tidak polar, volatil, mempunyai bau khas. Titik didih heksana pada tekanan 760 mmHg adalah 66 sampai 70°C (Schefflan dan Morris 1983). N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa - senyawa bersifat nonpolar (Maulida & Zulkarnaen, 2010). Menurut penelitian Rizal menggunakan kontrol negatif pelarut N-heksan, kloroform, etil asetat dan etanol memiliki hasil negatif tidak menunjukkan zona hambat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelarut tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri.

2.5.2.4 Etil Asetat

Etil asetat / etiletanoat adalah suatu zat cair tak berwarna dengan bau buah yang semerbak bertitik didih 77°C dan $d = 0,9\text{ g/ml}$ (Arsyad, 2001). Dalam penelitian gandapura, pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat dan heksana, ternyata hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut menunjukkan bahwa rendemen ekstrak tertinggi dihasilkan ekstrak etanol yang bersifat polar, diikuti oleh etil asetat dan heksana (Hernani *et al.*, 2017). Menurut Tiwari, *et al* (2011) dalam penelitiannya menyatakan bahwa pelarut etil asetat dengan karakteristik semipolar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenolo dan terpenoid.

2.5.2.5 Dimethylsulfoxide (DMSO)

Dimethylsulfoxide (DMSO) organosulfur yang mempunyai rumus kimia $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$. DMSO merupakan pelarut organik yang dapat melarutkan senyawa polar, non-polar, dan larut dalam pelarut organik seperti air, alkohol, ester, dll. *Dimethylsulfoxide*

(DMSO) mempunyai ciri-ciri yaitu tidak berwarna, tidak berbau, dan sedikit higroskopik (Suryaku, 2017).

2.6 Bakteri

Bakteri merupakan uniseluler, pada umumnya tidak berklorofil, ada beberapa yang fotosintetik dan produksi aseksualnya secara pembelahan dan bakteri mempunyai ukuran sel kecil dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Bakteri memiliki ukuran sel 0,5-1,0 μm kali 2,0-5,0 μm , dan memiliki tiga bentuk dasar yaitu bentuk bulat atau *kokus*, bentuk batang atau *bacillus*, bentuk *spiral* (Dwidjoseputro, 1985).

Bakteri berdasarkan komposisi dinding sel dan sifat pewarnaannya dibedakan menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

2.6.1 Bakteri Gram Negatif

Bakteri gram negatif berbentuk batang (*Enterobacteriaceae*) habitatnya adalah usus manusia dan binatang. *Enterobacteriaceae* meliputi *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*. Beberapa organisme seperti *Escherichia coli* merupakan flora normal dan dapat menyebabkan penyakit, sedangkan yang lain seperti *salmonella* dan *shigella* merupakan patogen yang umum bagi manusia (Brooks, 2013).

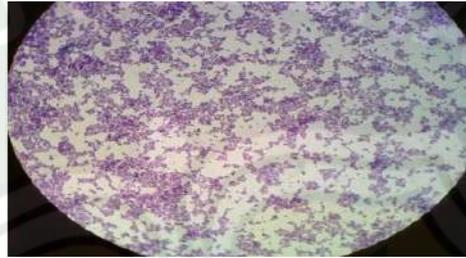
2.6.1 Bakteri Gram-positif

Bakteri gram positif merupakan bakteri pembentuk spora misalnya spesies *Bacillus* dan *Clostridium*. Kedua spesies ini terdapat dimana-mana dalam membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Adapun bakteri gram positif yang tidak membentuk spora yaitu spesies *Corynebacterium*, *Listeria*, *Propionibacterium*, dan *Acynomyces*. Spesies *Staphylococcus* dan *Streptococcus* juga merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat, biasanya berbentuk menggerombol (Brooks, 2013).

2.7 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling

baik pada suhu kamar (20-25⁰C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Brooks, 2013).



Gambar 2. 2 Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*)

(dokumentasi pribadi, 2021)

2.7.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Dwidjoseputro, 1985).

Regnum : *Plant*

Filum : *Protophyta*

Kelas : *Schyzomycetes*

Ordo : *Eubacteriales*

Family : *Microccaceae*

Genus : *Sthaphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.7.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Sebagian bakteri *Staphylococcus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol (Ayu & Pintadi, 2020).

Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh

Staphylococcus aureus adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (J.Ryan & Ray, 2010).

Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru (Brooks, 2013).

Kontaminasi langsung *Staphylococcus aureus* pada luka terbuka (seperti luka pascabedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomielitis kronis setelah fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak, merupakan penyebab infeksi nosokomial (Brooks, 2013). Terhadap beberapa antimikroba *Staphylococcus aureus* menjadi cepat resisten, hal ini merupakan masalah besar pada terapi. *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi setiap jaringan ataupun alat tubuh dan menimbulkan penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa furunkel yang ringan pada kulit sampai berupa suatu piema yang fatal (Anonim, 1994).

2.8 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu yang memiliki kemampuan (dalam konsentrasi rendah) untuk menghambat atau membunuh, secara selektif mikroorganisme lain (Subaidi, 2016). Antibiotika adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Tan Hoan Tjay & Kirana Rahardja, 2010).

2.8.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Berdasarkan aktivitasnya antibakteri dapat dibagi atas 2 kelompok, yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri, namun tidak membunuhnya) dan bakterisidal (bersifat membunuh bakteri dalam spektrum yang luas). Sedangkan berdasarkan mekanisme kerjanya, obat antibakteri dapat dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu :

2.8.1.1 Menghambat metabolisme sel mikroba

Tidak seperti mamalia yang bisa mendapatkan asam folat dari luar, mikroba harus mensintesis asam folat dari para asam amino benzoat (PABA) untuk kelangsungan hidupnya. Sulfonamid yang memiliki kemiripan struktur molekul dengan PABA akan berkompetisi untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat yang nonfungsional, asam p-aminosalisilat (PAS) yang merupakan analog PABA bekerja dengan menghambat sintesis asam folat, contoh lain dari obat yang menghambat metabolisme sel mikroba adalah trimetropin. Dengan mekanisme kerja ini akan diperoleh efek bakteriostatik pada mikroba (G. Gunawan & Sulistia, 2007).

2.8.1.2 Menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri tersusun atas polipeptidoglikan yang merupakan kompleks primer glikopeptida. Sikloserin menghambat reaksi sintesis dinding bakteri paling dini, dan selanjutnya diikuti berturut-turut oleh basitrasin, vankomisin. Penisilin dan sefalosporin menghambat reaksi terakhir dari sintesis dinding sel bakteri (transpeptidasi). Perbedaan tekanan osmotik antara sel bakteri dengan lingkungan di luar sel menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri sehingga bakteri akan lisis. Mekanisme kerja ini merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (G. Gunawan & Sulistia, 2007).

2.8.1.3 Mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Contoh obat dalam golongan adalah polimiksin, polien, antibakteri kemoterapeutik dan antiseptik surface active agents. Polimiksin yang merupakan senyawa ammonium-kuartener merusak membran sel bakteri melalui interaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba, bakteri Gram negatif lebih peka terhadap polimiksin disebabkan kandungan fosfor yang lebih tinggi dibandingkan bakteri Gram positif. Antiseptik yang mengubah tegangan

permukaan (surface-active agents) merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba yang berakibat keluarnya berbagai komponen penting dari asam sel mikroba seperti protein, asam nukleat nukleotida dan lain-lain. Oleh karena itu obat golongan ini memiliki efek bakterisidal terhadap bakteri (G. Gunawan & Sulistia, 2007).

2.8.1.4 Menghambat sintesis protein sel mikroba

Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kehidupannya, sintesis protein ini berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA, pada bakteri ribosom terdiri atas dua sub-unit, 30S dan 50S, pada sintesis protein kedua sub-unit ini akan bergabung pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Streptomisin berikatan dengan ribosom 30S dan menyebabkan tRNA salah membaca mRNA pada sintesis protein, sehingga akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional. Tetrasiklin berikatan dengan ribosom 30S dan mencegah masuknya koplek tRNA-asam amino pada lokasinya. Eritromisin akan berinteraksi dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA-peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptide, sehingga rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang. Kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan dapat diperpanjang. Kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat kerja enzim peptidil transferasi dalam pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida (G. Gunawan & Sulistia, 2007).

2.8.1.5 Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Contoh obat golongan ini adalah rifampisin dan kuinolon. Rifampisin merupakan derivat rifamisin yang berfungsi menghambat sintesis RNA dan DNA bakteri dengan cara berikatan dengan enzim polimerase-RNA. Sedangkan obat golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral sehingga bisa masuk ke dalam sel bakteri yang kecil (G. Gunawan & Sulistia, 2007).

2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri bertujuan untuk mengukur respon pertumbuhan populasi mikroba terhadap suatu agen antibakteri yang telah ditentukan (Pratiwi, 2008). Dua sistem uji standar untuk menentukan level resistensi in-vitro zat antibakteri adalah difusi dan dilusi (Pascucci et al., 2011).

2.9.1 Metode Difusi

Metode difusi menentukan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (Brooks, 2013). Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

2.9.1.1 Metode Cakram (*Disc*)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini digunakan suatu cakram kertas saring (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian didinkubasi pada waktu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang dapat di dapat diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37⁰ C. hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pelczar, 1986). Metode ini dilakukan dengan menanamkan bakteri pada media agar padat tertentu kemudian diletakkan pada *disk* yang sudah mengandung obat kemudian dilihat hasilnya. Diameter zona bening disekitar diukur sebagai kekuatan inhibisi obat melawan bakteri yang diuji (Siti Aminah Hasibuan, 2016).

Tabel 2. 1 Diameter Zona Hambat

Dimeter zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
>21 mm	Sangat kuat
11-20 mm	Kuat
6-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Metode cakram disk atau cakram kertas ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta

ketebalan medium (Pelczar, 1986). Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram disk biasanya sulit untuk diinterpretasikan. Selain itu, metode cakram disk ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat (G, 1992).

2.9.1.2 Cara Parit (*ditch*)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit .

2.9.1.3 Cara Sumuran (*hole/cup*)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (G, 1992).

2.9.1.3 Metode Dilusi

Pada metode ini ditentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) suatu zat antibakteri terhadap bakteri yang diujikan. Prinsip dari metode dilusi adalah bahan antibakteri yang sudah diencerkan ke dalam beberapa konsentrasi disatukan dengan media bakteri, baik cair maupun padat. Terdapat 2 cara untuk melakukan metode dilusi ini, yaitu metode dilusi cair (*broth dilution*) dan metode dilusi padat (*solid dilution*) (Pratiwi, 2008).

Selanjutnya ditentukan KHM, yaitu konsentrasi zat terkecil yang masih menghambat pertumbuhan kuman, dan ditentukan KBM, konsentrasi zat terkecil yang dapat membunuh 99,9% bakteri dalam inokulum. Nilai KHM suatu zat antibakteri berkorelasi secara logaritmik (log.) dengan diameter zona hambat metode difusi (Pascucci et al., 2011). Namun, dikarenakan rumit dan memakan waktu yang lama, metode ini jarang digunakan untuk uji laboratorium rutin (Brooks, 2013).

2.10 Obat Golongan Antibakteri

2.10.1 Kontrol Positif (Kloramfenikol)

Kloramfenikol menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang, karena kloramfenikol menghambat enzim peptidil transferase. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan bakteri bisa tumbuh lagi jika pengaruh obat dihilangkan (Brooks, 2013). Kloramfenikol merupakan suatu golongan antibiotika dengan spektrum kerja yang luas. Antibiotik ini berkhasiat sebagai bakteriostatik terhadap hampir semua bakteri gram positif dan sejumlah bakteri gram negatif (Tjay & Rahardja, 2007). Penelitian Ratna et al., uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan hasil yang resisten terhadap ampisilin, eritromisin dan tetrasiklin menggunakan zona hambat 12 mm, 13 mm, dan 9 mm. Uji sensitivitas terhadap kloramfenikol mempunyai zona hambat 22 mm sehingga akibatnya *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap kloramfenikol.

Karakteristik Kloramfenikol menurut FI IV adalah sebagai berikut :

- Nama umum : Kloramfenikol
- Nama lain : Chloramphenicol
- Nama kimia : *D(-)-treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol*
- Suhu lebur : 149 °C – 153 °C
- Pemerian : hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.
- Kelarutan : Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat.
- Persyaratan : Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

2.11 Liquid Chromatography Mass Spectrometer (LC-MS)

Liquid chromatography-mass spectrometer merupakan satu-satunya teknik kromatografi cair dengan *detector* spectrometer massa. Penggunaan LC-MS untuk penelitian bio-analisis dimulai pada akhir 1980-an (Bowers et al., 2019). Keuntungan dari LC-MS yaitu dapat menganalisis lebih luas berbagai komponen,

seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein (Mangurana et al., 2019). Adapun kelebihan dari teknologi LC-MS meliputi (Vogeser & Seger, 2008).

1. Spesifitas. Hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spectrometer massa sebagai detector.
2. Aplikasi yang luas dengan system yang praktis. Berbeda dengan GC-MS sebagai spectrometer massa “klasik”, penerapan LC-MS/MS tidak terbatas untuk molekul volatil (biasanya dengan berat molekul dibawah 500 Da). Mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya Teknik derivatisasi.
3. Fleksibilitas. Pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat.
4. Kaya informasi. Sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak parameter.

Spectrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi mereka. Dua komponen kunci dalam pproses ini adalah sumber ion (*ion source*) yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa (*mass analyzer*) yang menyeleksi ion. System LC-MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa. Masing-masing *ion source* dan *mass analyzer* memiliki kelebihan dan kekurangan sehingga harus disesuaikan dengan jenis informasi yang dibutuhkan (“Agilent Technologies Inc.,” 2019).

Hasil analisis data LC/MS-MS akan didapatkan kromatogram berupa alur tinggi peak dan akan didapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat di ketahui jumlah senyawa yang dikandung setiap sampel. Komponen elusi dari kolom kromatografi kemudian diteruskan ke spektrometer massa melalui antarmuka khusus Prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya, alatnya terdiri atas kolom (sebagai fasa diam) dan larutan tertentu sebagai fasa geraknya tekanan tinggi digunakan untuk mendorong fasa gerak. Campuran analit akan terpisah berdasarkan kepolarannya dan kecepatannya untuk sampai ke detektor (waktu retensinya) akan berbeda, hal ini

akan teramati pada spektrum yang puncak-puncaknya terpisah (Cahaya Himawan et al., 2012).

Komponen elusi dari kolom kromatografi kemudian diteruskan ke spektrometer massa melalui antarmuka khusus. Prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya, alatnya terdiri atas kolom (sebagai fasa diam) dan larutan tertentu sebagai fasa geraknya. Tekanan tinggi digunakan untuk mendorong fasa gerak. Campuran analit akan terpisah berdasarkan kepolarannya dan kecepatannya untuk sampai ke detektor (waktu retensinya) akan berbeda, hal ini akan teramati pada spektrum yang puncak-puncaknya terpisah (Cahaya Himawan et al., 2012). Bantuan pompa fasa gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran, karena perbedaan kekuatan interaksi antara larutan terhadap fasa diam. Larutan yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Sebaliknya, larutan yang kuat berinteraksi dengan fasa diam maka larutan tersebut akan keluar kolom, kemudian dideteksi oleh detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram (Alegantina & Isnawati, 2015).

Bantuan pompa fasa gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran, karena perbedaan kekuatan interaksi antara larutan terhadap fasa diam. Larutan yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Sebaliknya, larutan yang kuat berinteraksi dengan fasa diam maka larutan tersebut akan keluar kolom, kemudian dideteksi oleh detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram (Alegantina & Isnawati, 2015).

2.11 Hipotesis

2.11.1 Menurut Munirah ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) mempunyai kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, polifenol, minyak atsiri dan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri (Lailatul et al., 2013).

Ho: Ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) tidak memiliki aktifitas antibakteri.

Ha: Ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki aktivitas antibakteri.

2.11.2 Fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki konsentrasi paling optimum terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Ho: tidak memiliki konsentrasi paling optimum.

Ha: memiliki konsentrasi paling optimum.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yang digunakan adalah daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang segar, etanol 70%, n-heksana, etil asetat, aquadestilata, *Nutrient Both* (NB), *Nutrient Agar* (NA), bakteri *staphylococcus aureus*, antibiotik kloramfenikol.

3.1.2 Alat

Untuk alat yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) merk Shimadzu, Erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, botol maserasi, aluminium foil, corong pisah, labu evaporator, cawan penguap, kaca arloji, pipet, blender, spatula, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, jarum ose, batang L, pinset, mikropipet, dan tip, lampu spiritus, kapas steril, vortex, *hot plate*, oven, lemari pendingin, *laminar air flow* (LAF), inkubator, cakram kosong steril dan alat-alat gelas standar laboratorium.

3.2 Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini menggunakan daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dari Desa Tanjungsari, Kecamatan Boyolangu Kabupaten Tulungagung.

3.3 Sampel penelitian

Pada penelitian kali ini menggunakan daun jinten (*plectranthus amboinicus*) segar yang telah ditandai dengan daun yang berwarna hijau dan utuh, di panen dari pekarangan rumah yang berada di Desa Tanjungsari, Kecamatan Boyolangu Kabupaten Tulungagung.

3.4 Variabel penelitian

Untuk variabel penelitian diartikan sebagai segala sesuatu yang telah ditetapkan oleh peneliti dalam berbagai bentuk yang ditujukan untuk dibelajar sehingga memberikan hasil akhir yang dapat disimpulkan (Sugiyono, 2019). Sedangkan untuk variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel bebas, terikat serta terkontrol.

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2019). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan pelarut etanol, n- heksan dan etil asetat, dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

3.4.2 Variabel kontrol

Variabel kontrol atau terkendali adalah variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2019). Penelitian ini menggunakan variabel kontrol metode maserasi dan aktivitas antibakteri hasil fraksi etanol, n-heksan, etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

3.4.3 Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2019). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat fraksi ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus*.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Determinasi tanaman

Sampel daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dideterminasi di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Tujuan determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman yang digunakan pada pengujian.

3.5.2 Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dilakukan dan hijau. Daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) kemudian dilakukan proses sortasi basah bertujuan untuk membersihkan daun dari kotoran-kotoran dan bahan-bahan asing lainnya (RI, 2014). Pencucian menggunakan air bersih secara mengalir sebanyak tiga kali yang bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat pada daun dan selanjutnya ditiriskan (RI, 2014). Daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin-

inginkan tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Simplisia kering dilakukan sortasi kering bertujuan untuk dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya. Simplisia disimpan dalam wadah dan dihaluskan sampai menjadi serbuk halus. Simplisia kering diayak dengan ayakan ukuran 80 *mesh*, serbuk halus akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Selanjutnya ditimbang 500 gram untuk dilakukan proses ekstraksi secara maserasi (RI, 2014).

3.5.3 Pemeriksaan karakteristik simplisia

3.5.3.1 Uji susut pengeringan simplisia

Pada uji susut pengeringan simplisia dilakukan dengan menimbang daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) segar dan daun jinten yang telah dikeringkan. Rumus perhitungan uji susut pengeringan yaitu:

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{B-A}{A} \times 100\% \text{ (Depkes RI., 2000)}$$

Keterangan: A= bobot daun basah (gram) dan B= bobot daun kering (gram)

3.5.3.2 Uji kadar air serbuk simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan cara kurang lebih 10gram serbuk simplisia kedalam wadah yang telah ditara dan ditimbang, selanjutnya mengeringkan serbuk simplisia pada oven dengan suhu 105⁰C sampai berat konstan, dilakukan penimbangan dan mencatat hasil yang diperoleh (Depkes RI., 2000). Rumus perhitungan uji kadar air yaitu:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \text{ (Depkes RI., 2000)}$$

Keterangan: A= bobot daun basah (gram) dan B= bobot daun kering (gram)

3.5.4 Pembuatan ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*)

Pembuatan ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan menggunakan metode maserasi, memasukkan serbuk daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebanyak 300 gram kedalam botol maserasi dan ditambahkan etanol 96% 1000 ml sambil penggojokan beberapa kali. Maserat yang telah didapat kemudian disaring dengan menggunakan kain flanel, dilakukan replikasi sampai memperoleh larutan berwarna bening hal ini bertujuan agar senyawa yang terkandung didalam ekstrak dapat tersari seluruhnya dengan proses remaserasi (Depkes RI., 2000). Langkah selanjutnya pemekatan ekstrak yang telah disari. Proses pemekatan ini dilakukan dengan menggunakan evaporator sampai

didapatkan ekstrak kental atau rendemen, setelah diperoleh ekstrak kental dilakukan penimbangan ekstrak dan penyimpanan ekstrak. Ekstrak kental yang telah diperoleh kemudian disimpan dalam lemari pendingin (Zalfiatri et al., 2018).

3.5.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

3.5.5.1 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol bertujuan agar mendapatkan ekstrak murni tanpa ada kontaminasi. Melakukan uji bebas etanol karena etanol bersifat antifungi dan antibakteri sehingga tidak akan menimbulkan hasil positif palsu diperlakukan sampel (Ari Kurniarum, 2015). Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan ekstrak kedalam tabung reaksi yang ditambahkan 1 ml kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) dan 1 ml asam sulfat pekat (H_2SO_4). Larutan yang tidak mengandung etanol atau bebas etanol akan terbentuk warna campuran dari larutan ekstrak dan larutan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) yang telah ditambahkan asam sulfat (H_2SO_4), tetapi jika larutan mengandung etanol maka akan terbentuk warna biru (Pertiwi et al., 2017).

3.5.5.2 Organoleptik

Uji organoleptik menggunakan panca indera secara langsung untuk menunjukkan bentuk, warna dan bau dari ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) (Depkes RI., 2000).

3.5.5.3 Rendemen ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dihitung membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan (Depkes RI., 2000).

$$\text{Rumus \% rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

3.5.6 Skrining fitokimia

3.5.6.1 Flavonoid

Sampel sebanyak kurang lebih 1 mL dicampur dengan 3 mL etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat ditambah Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol (Harborne, 1987).

3.5.6.2 Alkaloid

Sampel ekstrak 0,5 g ditambah 1 mL HCl 2N dan 9 mL *aquadest* panas. Larutan dipanaskan 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi *Dragendorf*. Sampel positif ditunjukkan terbentuk warna merah atau jingga (Setyani et al., 2016).

3.5.6.3 Tanin

Sampel sebanyak 2 g ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 mL larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 1987).

3.5.6.4 Saponin

Sampel ekstrak ditambahkan busa dalam air panas dan dikocok kuat. Penambahan 1 tetes HCL 2N, hasil positif ditandai dengan busa yang stabil dalam waktu 5 menit tidak akan hilang dan terus terlihat (Wardhani et al., 2020).

3.5.7 Fraksinasi

Ekstrak etanol difraksinasi dengan pelarut bertingkat yaitu pelarut n-heksan, etil asetat, dan aquadest. Ekstrak etanol sebanyak 5 gram ditambahkan 75 ml *aquadestilata*, kemudian di masukkan kedalam corong pisah. Setelah itu ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 25 ml diulang sebanyak 3 kali. Digojok perlahan-lahan, larutan yang telah tercampur ditunggu beberapa menit sampai larutan memisah dan diambil fraksi n-heksan sebagai pelarut non-polar. Residu yang dihasilkan difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat 25 ml digojok perlahan dan ditunggu sampai larutan memisah lalu didapatkan fraksi etil asetat sebagai larutan semi polar dan larutan yang terakhir didapatkan fraksi *aquadestilata* sebagai larutan yang polar, serta keduanya dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fraksi yang dihasilkan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C. Larutan uji fraksi etanol konsentrasi 15%, 20%, 25% dengan menimbang fraksi 1,5gram, 2gram, 2,5gram yang dilarutkan dengan DMSO 5% dengan volume 10 ml.

3.5.8 Uji bebas etil asetat

Pemeriksaan etil asetat dsism fraksi etil asetat dilakukan dengan cara fraksi etil asetat dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan asam sulfat encer dan

dipanaskan. Ekstrak dikatakan bebas etil asetat jika tidak tercium bau asetat (cuka) (Udayani & Meriyani, 2016).

3.5.9 Pembuatan Media

3.5.9.1 Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, *mycoplasma* atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.5.9.2 Pembuatan media *nutrient broth* (NB)

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 mL *aquadestilata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi (World Health Organization (WHO), 2010)..

3.5.9.2 Pembuatan media *eosin manitol salt agar* (MSA)

Serbuk MSA sebanyak 1,08 g dilarutkan dalam 10 mL *aquadestilata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (World Health Organization (WHO), 2010).

3.5.9.3 Pembuatan media *nutrient agar* (NA)

Media NA untuk membiakkan bakteri uji. Serbuk NA ditimbang 0,2 gram dilarutkan dalam *aquadestilata* 10 ml dan dipanaskan sampai mendidih sehingga serbuk NA terlarut. Larutan NA dilakukan pemeriksaan pH dengan kertas pH Universal. Media agar disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media agar dituangkan pada plate/ cawan petri (Sarlina et al., 2017).

3.5.9.4 Pembuatan larutan uji

Fraksi ekstrak daun jinten diencerkan dengan menggunakan pelarut masing-masing fraksi yaitu *aquadestilata*, n-heksan dan etil asetat dengan seri konsentrasi 15%, 20%, 25% dilarutkan dengan DMSO 5% pada masing-masing volume 10 ml. larutan uji fraksi *aquadestilata* konsentrasi 15%, 20%, 25%, dengan

menimbang fraksi 1,5 gram, 2 gram, 2,5 gram yang dilarutkan dengan DMSO sebanyak volume 10 ml. perlakuan tersebut sama dengan etil asetat dan n-heksan. Menggunakan DMSO karena ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dapat dilarutkan menggunakan DMSO dan aman digunakan untuk uji aktifitas antibakteri sebab tidak menunjukkan adanya zona hambat ketika diujikan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. coli* (Wijayanti & Susilowati, 2017) dan menurut Alfath DMSO juga digunakan sebagai pelarut karena DMSO dapat berfungsi sebagai pelarut yang dapat meresap cepat ke dalam ekstrak tanpa merusak ekstrak (Alfath et al., 2013).

3.5.9.5 Pembuatan kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu kloramfenikol. Kloramfenikol termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. Aureus* karena memiliki zona hambat sebesar 22 mm (Alfath et al., 2013). Pada kontrol positif menggunakan kloramfenikol 0,1% menghasilkan zona hambat sebesar $31,29 \pm 3,51$ mm artinya menghasilkan zona hambat yang sangat kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Sari, 2015).

3.5.9.6 Pembuatan kontrol negatif

Pembuatan larutan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian kali ini adalah DMSO 5%. Pembuatan DMSO 5% dengan cara melarutkan DMSO sebanyak 5 ml dengan *aquadestilata*. Pelarut ini tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap larutan uji, sebab karena itu *dimetilsulfoxide* (DMSO) digunakan sebagai kontrol negatif. *Dimetilsulfoxide* (DMSO) mempunyai aktivitas antibakteri pada konsentrasi di atas 5% dan pada konsentrasi 2% tidak efektif (Suryaku, 2017).

3.5.9.7 Pembuatan suspensi bakteri

Ose dari biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan suspensi ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. Farland mempunyai populasi 1×10^7 CFU/mL - 1×10^8 CFU/mL) (Brooks, 2013).

3.5.9.8 Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*)

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*paper disc*) berdiameter 6 mm yang telah disterilkan. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tiga kali pengulangan. *Paper disc* dicelupkan ke dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan mikropipet sebanyak 20 mikroliter, kemudian diletakkan di atas media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam kloramfenikol. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam DMSO 5%. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap terbentuknya zona hambat di sekitar *paper disc* (Kusumowati et al., 2014).

3.5.9.9 Pengukuran zona hambat

Pengukuran dilakukan setelah masa inkubasi. Zona hambat yang terbentuk disekitar sumur diukur diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan millimeter (mm) dengan menggunakan jangka sorong dan penggaris sebanyak 3 pengulangan (MULYATNI et al., 2016).

3.6 Analisis Statistika

Data hasil uji aktivitas fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dianalisa secara statistik menggunakan program *Statistical Product Services Solution* (SPSS 21).

Pengolahan data sebagai berikut :

3.6.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

H₀ : data berdistribusi normal

H₁ : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan :

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H₁ diterima

3.6.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel – sampel yang diambil dari populasi yang sama (Imam Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic*.

Perumusan hipotesis :

H₀ : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

H₁ : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen

Pengambilan keputusan :

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H₁ diterima

3.6.3 Uji One Way Anova

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan variasi konsentrasi fraksi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis :

H₀ : Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

H₁ : Ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Pengambilan keputusan :

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H₁ diterima

3.7 Uji Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS)

Pada penelitian ini menggunakan uji kuantitatif LCMS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometer*) untuk mengukur kadar senyawa aktif yang terkandung dalam daun jinten (*Plectranthus amboinicus*), dengan prinsip memisahkan dan mendeteksi senyawa yang terdapat pada daun jinten dari senyawa lainnya berdasarkan berat molekulnya.

Analisis senyawa menggunakan metode LCMS dilakukan dengan beberapa tahapan, yakni :

3.7.1 Pengenceran Sampel

Nanopartikel ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dilarutkan ke dalam pelarut metanol dengan konsentrasi 100 ppm pada tabung reaksi kemudian divortex sampai didapatkan larutan yang homogen. Kemudian dilakukan pemisahan padatan dengan proses sentrifugasi pada kecepatan 800 rpm selama 10 menit, lalu diambil supernatan dan ekstrak daun jinten untuk diproses ke tahap selanjutnya.

3.7.2 Presipitasi Protein

Pemisahan protein melalui proses pengendapan menggunakan pelarut kimia. Diambil 2 ml supernatan yang telah diencerkan sebelumnya, dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, kemudian ditambahkan 3 ml asetonitril yang diasamkan dengan 0,2% asam format. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 30 detik lalu diambil supernatan yang diperoleh.

3.7.3 Pemurnian dengan SPE (Solid Phase Ekstraktion)

Sampel yang telah dikondisikan dengan 1 ml (asetonitril : air) dimasukkan pada Sep-Pak C18 Cartridge (1 cc, 100 mg), kemudian ditampung 0,5 ml larutan yang keluar, setelah itu ditambahkan 1 ml sampel ke dalam kolom Sep-Pak dan ditampung kembali 0,5 ml larutan yang keluar. Larutan yang telah ditampung ditambahkan 0,5 ml larutan 80:20 asetonitril dengan air ke dalam kolom Sep-Pak kemudian ditampung kembali larutan yang keluar sebanyak 0,5 ml .

Larutan hasil pemurnian diambil sebanyak 0,25 ml ditambahkan 200 μ mol amonium fosfat dalam larutan 50:50 asetonitril dengan metanol ke dalam Sep-Pak. Setelah itu diambil 0,5 ml larutan yang keluar dan ditambahkan 0,2 ml larutan 25:75 asetonitril/buffer. Larutan siap digunakan untuk diinjeksikan pada LCMS yang sebelumnya sudah disaring terlebih dahulu dengan membran filter, selulosa acetate 0,45 μ m dan dilakukan *degassing*.

3.7.4 Persiapan Larutan

Persiapan larutan sebelum diinjeksikan pada LCMS harus memenuhi syarat sebagai berikut:

1. Botol larutan yang akan dipakai harus dibersihkan dengan baik dan benar yaitu dalam kondisi kering dan bebas dari kontaminan.
2. Semua larutan harus disaring terlebih dahulu dengan membran filter,

cellulosa acetate 0,45 μm

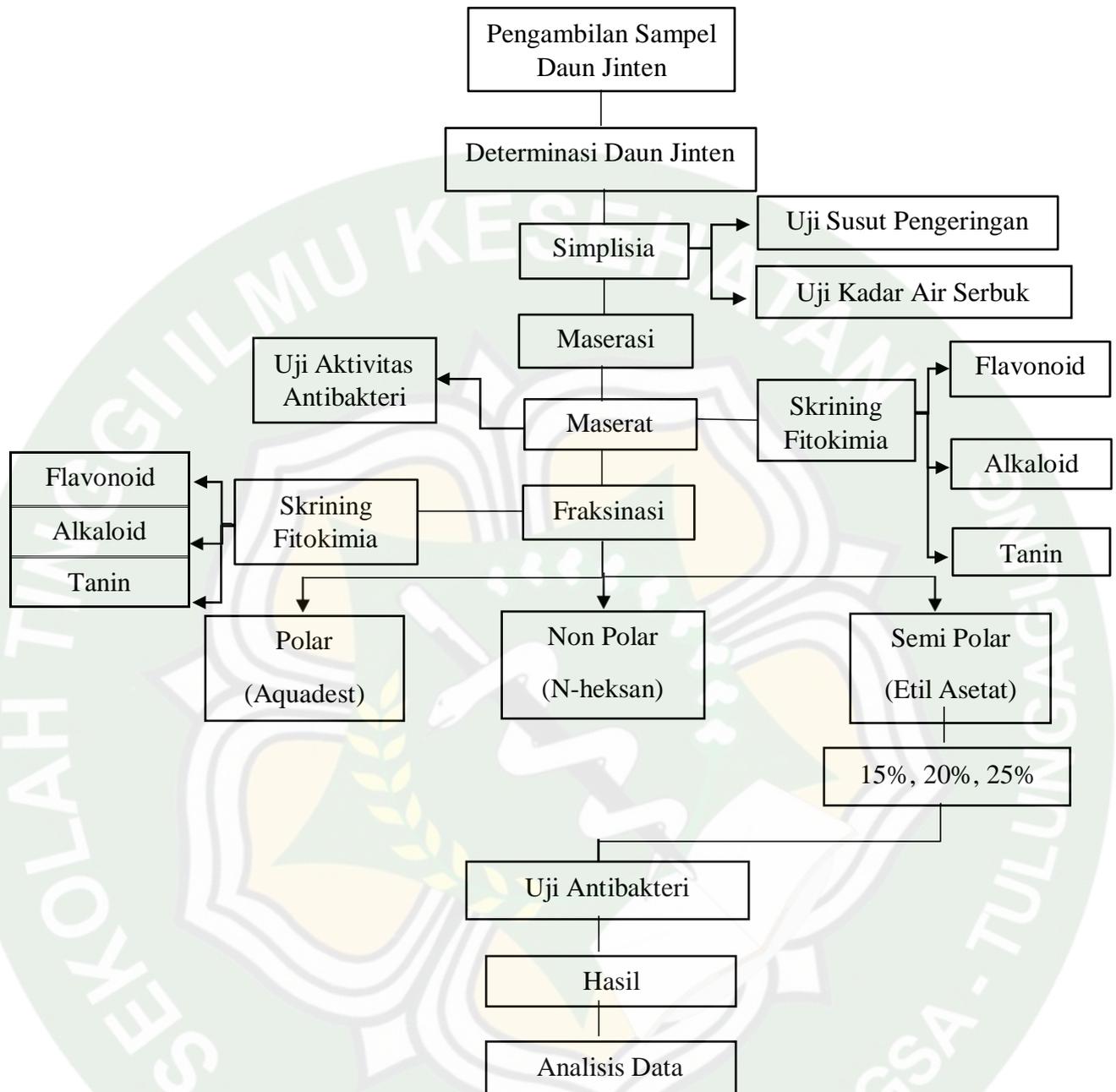
3. Semua larutan, setelah disaring harus dilakukan *degassing* guna untuk menghilangkan gas yang terdapat dalam larutan.

3.7.5 Operasi LCMS

Kadar senyawa aktif diuji dengan metode LCMS pada kondisi sebagai berikut: autosampler (suhu = 35°C, volume injeksi 1 μl), UPHLC dengan gradient (fase gerak = isocratic), kolom (2 mm x 150 mm x 3 μm), MS/MS. Menurut Long (2012) dalam penelitiannya menyatakan bahwa metode validasi dilakukan untuk memastikan akurasi dan presisi dari metode yang digunakan.



3.9 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Materia Medica, Batu. Tujuan dari determinasi untuk memastikan serta mengidentifikasi jenis tanaman yang digunakan. Penelitian ini menggunakan tanaman berupa daun jinten (*Plectranthus amboinicus*). Dengan hasil determinasi:

Kingdom : Plantae (tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : *Plectranthus*
Spesies : *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.
Sinonim : *Coleus amboinicus* Lour.

Nama Daerah : Daun jinten (Indonesia), bangun-bangun (Batak), sukan (Melayu), ajiran (Sunda), daun jinten (Jawa Tengah), daun kambing (Madura), iwak kunu etu (Timor), (Backer., et all, 1965).

Hasil dari determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang dibuat dalam penelitian serta kebenaran tanaman merupakan tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*). Surat pengesahan hasil determinasi terdapat pada lampiran 1.

4.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan memilih daun yang segar dan masih hijau dengan ciri-ciri daun tidak layu, tidak di gerogoti serangga, dengan daun yang berbentuk bagus. Daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) segar dilakukan sortasi basah dengan memisahkan kotoran atau benda asing lain. Pencucian menggunakan air bersih secara mengalir sebanyak tiga kali yang bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat pada daun dan selanjutnya ditiriskan (RI, 2014). Daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan tidak terkena cahaya

matahari secara langsung. Simplisia kering dilakukan sortasi kering bertujuan untuk dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya. Simplisia disimpan dalam wadah dan dihaluskan sampai menjadi serbuk halus. Simplisia kering diayak dengan ayakan ukuran 80 *mesh*, serbuk halus akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Selanjutnya ditimbang 100 gram untuk dilakukan proses ekstraksi secara maserasi (RI, 2014).

4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Uji susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui seberapa besar senyawa yang hilang akibat dari proses pengeringan (DepKes, 2000). Hasil uji susut pengeringan pada Tabel 4.1 diketahui susut pengeringan daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebesar 5%. Kadar air pada daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki penyusutan yang banyak. Saat dilakukan pengeringan dari 20kg daun jinten menjadi 1kg daun jinten kering.

tabel 4. 1 Hasil uji susut pengeringan dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*)

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	% Hasil
Daun jinten (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	20kg	1kg	5%

4.3.2 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air digunakan sebagai salah satu parameter untuk melihat kualitas simplisia daun jinten (*Plectranthus amboinicus*). Syarat dari uji kadar air yaitu tidak melebihi 10% (Meskes RI, 2000). Apabila syarat pada uji kadar air sesuai maka dapat meminimalisir kandungan air dalam simplisia sehingga dapat mencegah pertumbuhan dan aktivitas enzim mikroorganisme pada simplisia. Simplisia daun jinten (*Plectrabthus amboinicus*) akan tahan lama dan kandungan zat aktif didalamnya tidak berubah (Depkes RI, 2000). Hasil uji kadar air dapat dilihat pada Tabel 4.2

tabel 4. 2 Hasil uji kadar air dari serbuk simplisia daun jinten (*Plectranthus amboinicus*).

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	% Hasil
Daun jinten (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	12 g	11g	8,33%

Hasil uji kadar air pada daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebesar 8.33% yang menunjukkan hasil bahwa simplia tersebut telah memenuhi syarat uji kadar air yang telah ditetapkan.

4.4 Pembuatan Ekstrak Jinten

Pembuatan ekstrak daun jinten menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena hanya memerlukan peralatan yang sederhana, biaya relatif murah dan tidak memerlukan panas sehingga dapat menghindari penguapan komponen senyawa pada simplisia (Kiswandono, 2011). Langkah awal metode maserasi dengan memasukkan serbuk daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebanyak 100gram kedalam botol maserasi dan ditambahkan etanol 70% 1000 ml sambil penggojokan beberapa kali. Maserat yang telah didapat kemudian disaring dengan menggunakan kain flanel, dilakukan replikasi sampai memperoleh larutan berwarna bening hal ini bertujuan agar senyawa yang terkandung didalam ekstrak dapat tersari seluruhnya dengan proses remaserasi (Depkes RI., 2000).

Langkah selanjutnya pemekatan ekstrak yang telah disari. Proses pemekatan ini dilakukan dengan menggunakan evaporator sampai didapatkan ekstrak kental atau rendemen, setelah diperoleh ekstrak kental dilakukan penimbangan ekstrak dan penyimpanan ekstrak. Ekstrak kental yang telah diperoleh kemudian disimpan dalam lemari pendingin (Zalfiatri et al., 2018).

4.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

4.5.1 Uji Bebas Etanol

Tujuan uji bebas etanol terhadap daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) uji bebas etanol terhadap ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dilakukan untuk menghilangkan zat yang mengandung etanol karena etanol mempunyai sifat antifungi dan antibakteri. Kurniawati, E (2015) dalam penelitiannya mengatakan bahwa uji bebas etanol dilakukan untuk memperoleh ekstrak murni dan tidak terkontamiasi oleh etanol. Demikian uji bebas etanol dengan ekstrak jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan menggunakan larutan asam sulfat dan asam

asetat, masing-masing 1 ml. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada tabel 4.3 yang menghasilkan ekstrak tidak berbau khas pelarut ester yang bermakna bahwa ekstrak daun jinten sudah tidak etanol didalamnya.

tabel 4. 3 Hasil uji bebas etanol dari daun jinten

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Daun jinten (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	1 ml larutan asam sulfat, 1 ml asam asetat	-	Tidak berbau khas dari ester

4.5.2 Uji Rendemen

Dewatisari *et al* (2017) menyatakan dalam penelitiannya bahwa banyaknya komponen bioaktif yang tinggi yang terkandung didalamnya menandakan nilai rendemen yang tinggi. hasil uji rendemen ekstrak daun jinten sebesar 18% dari bobot ekstrak 180gram dibagi bobot serbuk simplisia 1000gram lalu dikalikan 100%. Hal tersebut menunjukkan bahwa rendemen yang dihasilkan cukup besar. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, jenis dan jumlah pelarut (Maslukhah *et al.*, 2016). Hasil perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.4.

tabel 4. 4 Hasil uji rendemen ekstrak daun jinten

Sampel	Bobot ekstrak	Bobot serbuk simplisia	%Hasil
Daun jinten (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	180gram	1000gram	18%

4.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun jinten bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dari ekstrak daun jinten. Skrining fitokimia dilakukan dengan metode pengujian warna serta dengan pereaksi warna. Hasil dari skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.5.

tabel 4. 5 Hasil skrining fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Perubahan warna	Hasil
Alkaloid	Ekstrak+reagen dragendroff	Jingga	+
Flavonoid	Ekstrak+DMSO+dragendroff	Orange	+
Saponin	Ekstrak+HCL 2N	Cincin coklat	+
Tannin	Ekstrak+aquadest+natrium klorida 10%+FeCl	Coklat kehijauan	+

Keterangan (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa

**Gambar 4. 1** Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Jinten

Keterangan: (A) Alkoloid, (B) Saponin, (C) Flavonoid, (D)Tanin

4.6.1 Alkaloid

Uji alkaloid untuk mengetahui terdapat senyawa alkaloid dalam ekstrak daun jinten. Hasil uji alkaloid terhadap ekstrak daun jinten mendapatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna jingga setelah penambahan pereaksi dragendroff, nitrogen membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ merupakan ion logam dan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina *et al.*, 2014).

4.6.2 Flavanoid

Flavonoid sebagai antibakteri dengan mekanisme kerjanya membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri serta diikuti keluarnya senyawa ekstraseluler (Bobbarala, dkk., 2012). Menurut Cushnie dan Lamb (2005) dalam penelitiannya menyatakan bahwa flavonoid selain berperan dalam inhibisi pada sintesis DNA –

RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat, flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi.

Senyawa flavanoid pada ekstrak daun jinten mendapatkan hasil positif, menurut penelitian Harborne (1987) yaitu larutan yang terbentuk endapan berwarna orange kemerahan. Mengidentifikasi sampel dengan penambahan etanol 70% sebanyak 2ml, kemudian diaduk lalu dipanaskan kemudian disaring. Hasil dari penyaringan ditambahkan Mg dan HCL pekat sedikit demi sedikit.

4.6.3 Saponin

Uji saponin dilakukan dengan sampel ekstrak yang ditahankan 1 tetes HCL 2 N lalu dikocok kuat, sehingga membentuk gumpalan busa yang stabil. Uji yang dilakukan mendapatkan hasil positif yang ditandai dengan gumpalan busa yang stabil selama 5 menit.

Saponin merupakan senyawa sekunder yang memiliki kegunaan sebagai antibakteri. Menurut penelitian Cheeke (2000) senyawa saponin memiliki diversifikasi struktur yang luas, sebagian dari senyawa saponin memiliki sifat surfaktan yang dapat menyebabkan lisis pada dinding protozoa, sehingga dapat digunakan sebagai defaunasi protozoa.

4.6.4 Tannin

Mengidentifikasi tannin yaitu mengencerkan ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan 3 ml aquadest panas dan diaduk hingga homogen, apabila ekstrak yang diencerkan sudah dingin ditambahkan larutan natrium klorida konsentrasi 10% sebanyak 5 tetes, kemudian ditambahkan pereaksi FeCL. Penelitian ini mendapatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna biru atau hitam yang kuat, hal tersebut terjadi karena senyawa kompleks dari tanin dan Fe³⁺ yang memberikan perubahan warna.

Senyawa tannin merupakan metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai antibakteri, dengan mekanisme kerja yaitu menghambat enzim transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria et al., 2009).

4.7 Fraksinasi

Ekstrak etanol difraksinasi dengan pelarut bertingkat yaitu pelarut n-heksan, etil asetat, dan aquadest. Ekstrak etanol sebanyak 5 gram ditambahkan 75 ml

aquadestilata, kemudian di masukkan kedalam corong pisah. Setelah itu ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 25 ml diulang sebanyak 3 kali. Digojok perlahan-lahan, larutan yang telah tercampur ditunggu beberapa menit sampai larutan memisah dan diambil fraksi n-heksan sebagai pelarut non-polar. Residu yang dihasilkan difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat 25 ml digojok perlahan dan ditunggu sampai larutan memisah lalu didapatkan fraksi etil asetat sebagai larutan semi polar dan larutan yang terakhir didapatkan fraksi *aquadestilata* sebagai larutan yang polar, serta keduanya dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Menurut Harbone (2006) menyatakan bahwa filtrat hasil penyaringan diuapkan menggunakan waterbath, sampai menghasilkan ekstrak yang kental seperti caramel.

4.8 Aktivitas Antibakteri dan Pengukuran Zona Hambat

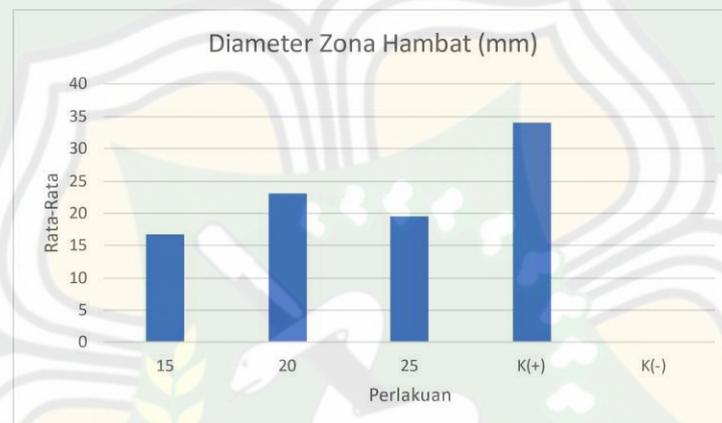
Uji aktivitas antibakteri daun jinten terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan pada fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan konsentrasi 15%, 20%, 25% dan penelitian kali ini menggunakan K+ kloramfenikol dan K- DMSO 5%. Senyawa yang terkandung dalam daun jinten yaitu senyawa flavonoid yang dimana senyawa flavonoid juga ada pada kloramfenikol yang digunakan sebagai K+. DMSO 5% digunakan sebagai K- karena bersifat tidak bakterisidal serta mampu melarutkan hampir semua senyawa dari polar ataupun non-polar. Metode untuk uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi cakram, metode ini dilakukan dengan menyerapkan antibakteri fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) pada *paper disc* yang ditempelkan pada media agar yang telah ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus* kemudian diinkubasi selama 24 jam lalu dilihat zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc*.

Susanto *et al* (2012) dalam penelitiannya mengatakan bahwa zona hambat dengan diameter ≥ 21 mm sangat kuat, zona hambat diameter 11-20mm dinyatakan kategori kuat, zona hambat 6-10mm dalam kategori sedang, zona hambat ≤ 5 mm dalam kategori lemah. Hasil zona hambat uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dalam dilihat pada tabel 4.6. Hasil dari tabel tersebut menunjukkan fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

tabel 4. 6 Diameter zona hambat antibakteri fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Rep I	Rep II	Rep III	Rata-rata	Keterangan
15%	15,5mm	18mm	17mm	16,8mm	Kuat
20%	25mm	25,5mm	19mm	23,1mm	Sangat kuat
25%	23mm	19,5mm	16,5mm	19,6mm	Kuat
K (+)	30,5mm	37mm	34,5mm	34mm	Sangat kuat
K (-)	0mm	0mm	0mm	0mm	-

Keterangan: K(+) Kloramfenikol 1%, K(-) DMSO 5%



Gambar 4. 2 Grafik rata-rata dari zona hambat uji antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan konsentrasi 15%, 20%, dan 25%. Tiga konsentrasi yang telah ditentukan tersebut mendapatkan hasil berupa zona bening di sekitar *paper disc*, diantaranya pada konsentrasi 15% dengan hasil replikasi pertama 15,5mm, replikasi kedua 18mm, replikasi ketiga 17mm dan diperoleh rata-rata sebesar 16,8mm. Konsentrasi 20% pada replikasi pertama mendapatkan hasil 20mm, replikasi kedua 25,5mm, replikasi ketiga 23,1mm, dan diperoleh rata-rata 23,1mm. Konsentrasi 25% replikasi pertama 23mm, replikasi kedua 19,5mm, replikasi ketiga 16,5mm dan diperoleh rata-rata sebesar 19,6mm. Selanjutnya untuk antibiotik kloramfenikol sebagai K+ pada konsentrasi pertama mendapatkan hasil 30,5mm, konsentrasi kedua 37mm, konsentrasi ketiga 34,5mm dan diperoleh rata-rata sebesar 34mm. Sedangkan DMSO 5% sebagai K- tidak membentuk zona hambat yaitu 00mm.

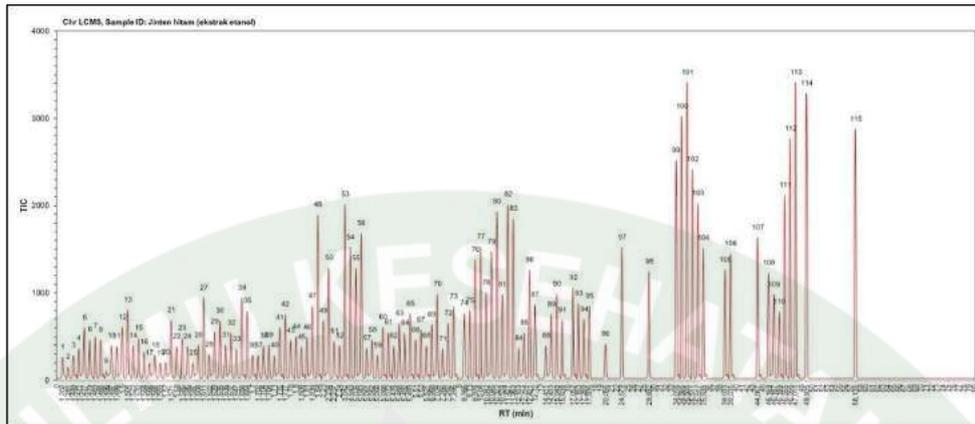
Dari hasil diatas disebutkan bahwasanya fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) mempunyai aktivitas antibakteri. Hasil penelitian kali ini menunjukkan bahwa konsentrasi 20% lebih besar dari pada konsentrasi 25%. Dalam penelitian kali ini dimana diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri. Kemungkinan ini terjadi karena perbedaan kesalahan saat proses pengenceran ekstrak daun jinten pada konsentrasi 25%.

Zona hambat paling optimum pada uji aktivitas anti bakteri dengan konsentrasi 15%, 20%, 25% yaitu pada konsentrasi 20% dengan rata-rata 23,1mm. Penelitian ini mengacu dari hasil analisis data pada uji *post hoc*, zona hambat paling optimum ialah besaran zona hambat dari perlakuan sediaan fraksi etil asetat ekstrak daun jinten pada konsentrasi terkecil yang besarnya setara atau tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif (Leono et al., 2020).

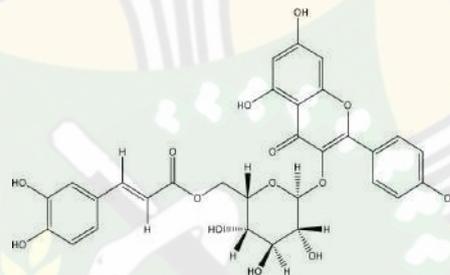
4.9 Identifikasi LC-MS (liquid Chromatography-Mass Spectrometri)

Identifikasi LC-MS (*liquid Chromatography-Mass Spectrometri*) dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang. Tujuan dari identifikasi ini untuk analisa senyawa organik, anorganik dan biologi dalam suatu sampel kompleks yang umum daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang diuji LC-MS (*liquid Chromatography-Mass Spectrometri*) yang berbentuk *chromatogram* yang dimana seluruh senyawa aktif dipisahkan berdasarkan polaritasnya. Dapat dilihat puncak terendah samapai tertinggi, dengan jumlah 115 senyawa yang ditemukan pada fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*).

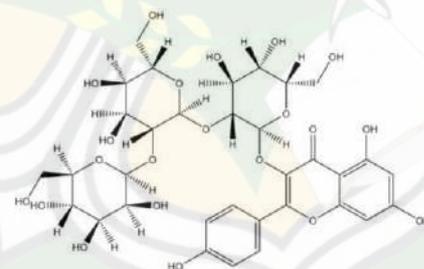
Hasil pada *chromatogram* dari *liquid cromatogram* mendapatkan hasil puncak tertinggi pada nomor 101 yang terdapat pada gambar 4.8 dengan senyawa yang teridentifikasi komposisi sebesar 3,26109% yang dinamakan kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside). Sedangkan untuk senyawa yang teridentifikais pada nomor 113 terdapat pada gambar 4.9 dengan komposisi senyawa sebesar 3,26141% yang dinamakan kaempferol 3-glucosyl-(1 →2)galactosyl-(1 → 2)-glucoside.



Gambar 4. 3 Hasil *chromatogram* dari *liquid Chromatography*



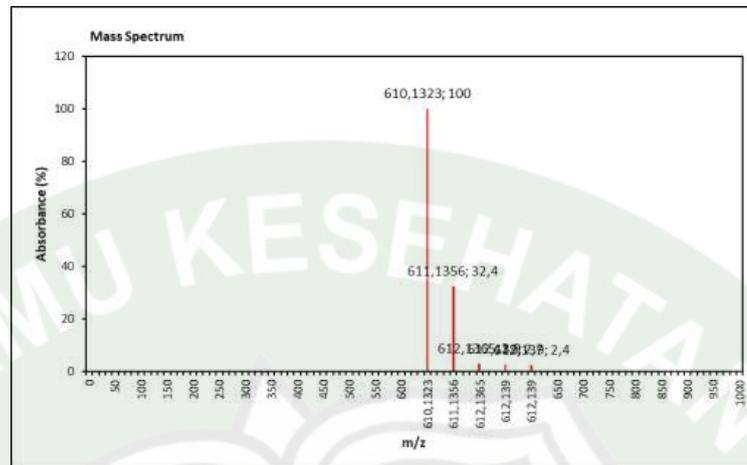
Gambar 4. 4 Hasil struktur senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside)



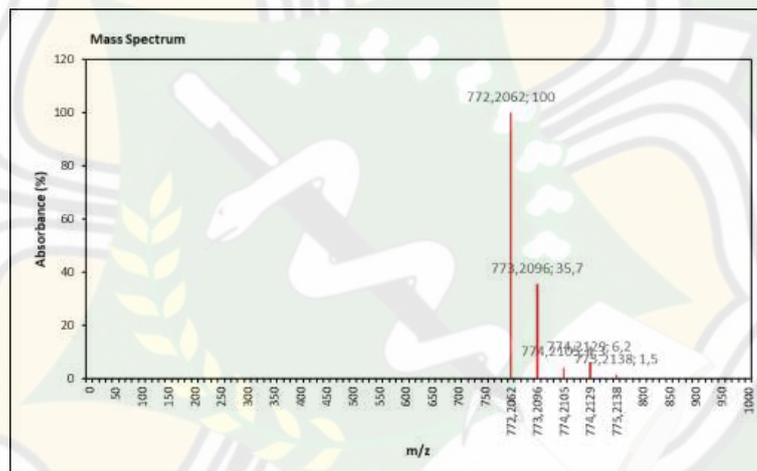
Gambar 4. 5 Hasil struktur senyawa senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1 → 2)galactosyl-(1 → 2)-glucoside

Mass spectrum senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside) terdapat pada gambar 4.10, senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside) memiliki beratmolekul (m/z) 612.139, dengan rumus kimia $C_{30}H_{26}O_{14}$. Sedangkan mass spektrumsenyawa kaempferol 3-glucosyl-(1 → 2)galactosyl-(1 → 2)-glucoside memiliki

berat molekul (m/z) 775.2138 dengan rumus kimia $C_{33}H_{40}O_{21}$, yang dapat dilihat pada gambar 4.11.



Gambar 4. 6 Hasil *Mass Spectrometri* senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside)



4.10 Analisis Statistika

Analisis statistika dilakukan untuk mengolah data hasil dari penelitian yaitu pada uji aktivitas antibakteri. Analisis uji aktivitas antibakteri menggunakan program SPSS 21 terhadap fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

4.10.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas data merupakan uji yang digunakan untuk mengukur apakah data memiliki distribusi normal, sehingga data tersebut dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan *shapiro wilk*, pada konsentrasi 15% dengan signifikansi 0,780, konsentrasi 20% signifikansi 0,132, konsentrasi 25% signifikansi 0,195, sedangkan untuk K+ signifikansi 0,747. Hasil pada uji normalitas data menunjukkan lebih besar dari 0,05 sehingga data terdistribusi normal. Hasil uji normalitas data dapat dilihat pada tabel 4.7.

tabel 4. 7 Hasil uji normalitas data

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat (mm)	15%	.219	3	.	.987	3	.780
	20%	.361	3	.	.807	3	.132
	25%	.187	3	.	.998	3	.915
	K(+)	.227	3	.	.983	3	.747

4.10.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas menggunakan *Levene Statistic* menunjukkan hasil signifikansi sebesar 0.098. Hasil pada uji homogenitas menunjukkan lebih besar dari 0,05 sehingga data terdistribusi normal. Hasil ujinormalitas data dapat dilihat pada tabel 4.8.

tabel 4. 8 Hasil uji homogenitas

Diameter Zona Hambat (mm)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.626	4	10	.098

4.10.3 Uji *One Way* ANOVA

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata pada sampel uji, apabila uji normalitas data dan uji homogenitas dikatakan normal dengan demikian uji *One Way* ANOVA dapat dilakukan. Uji ANOVA memiliki signifikansi sebesar 0,000 yaitu kurang dari 0,005 yang berdasarkan hal tersebut terdapat pengaruh variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji *One Way* ANOVA dapat dilihat pada tabel 4.9.

tabel 4. 9 Hasil uji *One Way* ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1824.433	4	456.108	63.348	.000
Within Groups	72.000	10	7.200		
Total	1896.433	14			

tabel 4. 10 Hasil tukey test

Tukey HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
15%	20%	-6.33333	2.19089	.093	-13.5437	.8771
	25%	-2.83333	2.19089	.701	-10.0437	4.3771
	K(+)	-17.16667*	2.19089	.000	-24.3771	-9.9563
	K(-)	16.83333*	2.19089	.000	9.6229	24.0437
20%	15%	6.33333	2.19089	.093	-.8771	13.5437
	25%	3.50000	2.19089	.530	-3.7104	10.7104
	K(+)	-10.83333*	2.19089	.004	-18.0437	-3.6229
	K(-)	23.16667*	2.19089	.000	15.9563	30.3771
25%	15%	2.83333	2.19089	.701	-4.3771	10.0437
	20%	-3.50000	2.19089	.530	-10.7104	3.7104
	K(+)	-14.33333*	2.19089	.000	-21.5437	-7.1229
	K(-)	19.66667*	2.19089	.000	12.4563	26.8771
K(+)	15%	17.16667*	2.19089	.000	9.9563	24.3771
	20%	10.83333*	2.19089	.004	3.6229	18.0437
	25%	14.33333*	2.19089	.000	7.1229	21.5437
	K(-)	34.00000*	2.19089	.000	26.7896	41.2104
K(-)	15%	-16.83333*	2.19089	.000	-24.0437	-9.6229
	20%	-23.16667*	2.19089	.000	-30.3771	-15.9563
	25%	-19.66667*	2.19089	.000	-26.8771	-12.4563

K(+) -34.00000* 2.19089 .000 -41.2104 -26.7896

Tukey test dilakukan untuk membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan setelah dari beberapa uji analisis dilakukan. Hasil penelitian ini tukey test antara K+ dan fraksi daun jinten dengan konsentrasi 15%, 20%, 25% masing-masing menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan karena tukey test menunjukkan nilai kurang dari 0,05. Hasil tukey test dapat dilihat di tabel 4.10.

tabel 4. 11 Hasil uji post hoc

Konsentrasi	N	Tukey HSD ^a		
		Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K(-)	3	.0000		
15%	3		16.8333	
25%	3		19.6667	
20%	3		23.1667	
K(+)	3			34.0000
Sig.		1.000	.093	1.000

Hasil uji post hoc menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan oleh fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) konsentrasi 15%, konsentrasi 20% dan konsentrasi 25% terhadap baketeri *Staphylococcus aureus* belum setara dengan zona hambat yang dihasilkan oleh kloramfenikol 1% sebagai K+, karena tidak adanya kelompok konsentrasi fraksi yang berada satu kolom dengan kolom K+. Hasil uji post hoc dapat dilihat pada tabel 4.11.

BAB IV

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan karena dalam daun jinten mengandung flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin yang efektif sebagai agen antibakteri.
2. Zona hambat paling optimum pada fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ialah pada konsentrasi 20%.
3. Analisis LC-MS (*liquid Chromatography-Mass Spectrometri*) terhadap ekstrak etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) pada penelitian kali ini terdapat 115 senyawa. Adapun hasil 2 puncak tertinggi yang disebut sebagai flavonoid yaitu senyawa kaemferol 3-(6''-caffeoylglucoside), senyawa kaemferol 3-(6''-caffeoylglucoside) memiliki berat molekul (m/z) 612.139 dengan rumus kimia $C_{30}H_{26}O_{14}$. Sedangkan mass spektrum senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1 →2)-glucoside memiliki berat molekul (m/z) 775.2138 dengan rumus kimia $C_{33}H_{40}O_{21}$.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi untuk mengetahui KHM dari ekstrak dan fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*).
3. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut secara praklinis pada hewan coba untuk mengetahui khasiat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*).
4. Peneliti selanjutnya dapat mengembangkan fraksi etil asetat ekstrak daun jinten memformulasikan menjadi sediaan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agilent Technologies Inc. (2019). *Corporate Philanthropy Report*, 34(11).
<https://doi.org/10.1002/cprt.30448>
- Alegantina, S., & Isnawati, A. (2015). Profil Disolusi Tablet Amlodipin dan Perbandingan Kadar Dua Produk Generik dengan Produk Inovator. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(1). <https://doi.org/10.22435/jki.v5i1.4081.11-18>
- Alfath, C. R., Yulina, V., & Sunnati, . (2013). Antibacterial Effect of Granati fructus Cortex Extract on Streptococcus mutans In Vitro. *Journal of Dentistry Indonesia*, 20(1). <https://doi.org/10.14693/jdi.v20i1.126>
- Amelia, P. (2014). Analisis A-Tokoferol (Vitamin E) pada Minyak Biji Kelor (Moringa oleifera Lam.) secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Kimia VALENSI*. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3612>
- Ari Kurniarum, A. K. (2015). Ari Kurniarum, Anik Kurniawati. *Jurnal Terpadu Ilmu Keperawatan*, 4(2).
- Arsyad. (2001). *Kamus Kimia Arti dan Penjelasan Istilah*. Gramedia.
- Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (Zingiber purpureum Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4).
- Ayu, Z. P., & Pintadi, H. (2020). Daya Antibakteri Ekstrak Jintan Hitam dan Daun Sirih terhadap Staphylococcus aureus pada Plat Gigi Tiruan. *Insisiva Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi Insisiva*, 9(1). <https://doi.org/10.18196/di.9113>
- Bahriul, P., Rahman, N., & Diah, A. W. M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 368–374.
- Bernasconi, G., D. (1995). Teknologi Kimia bagian 2. In *PT Pradnya Paramita*.
- Bowers, A. N., Trujillo-Rodríguez, M. J., Farooq, M. Q., & Anderson, J. L. (2019). Extraction of DNA with magnetic ionic liquids using in situ dispersive liquid–liquid microextraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411(28). <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02163-9>
- BPOM. (2005). *Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (Zingiber Purpureum Roxb)*. Dirjen Pom.
- BPOM. (2010). *Acuan Sediaan Herbal Vol. 5, Edisi I Direktorat Obat Asli Indonesia*. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI.
- BPOM. (2014). *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo*. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI.
- Brooks, et al. (2013). Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg. *EGC*, 23.

- Cahaya Himawan, H., Surjana, V., & Prawira, L. (2012). KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIARIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) SEBAGAI INHIBITOR BAKTERI PATOGEN. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2). <https://doi.org/10.33751/jf.v2i2.166>
- Catelan, M. (2009). Horizontal branch stars: The interplay between observations and theory, and insights into the formation of the Galaxy. *Astrophysics and Space Science*, 320(4), 261–309. <https://doi.org/10.1007/s10509-009-9987-8>
- Chandra, A., & Novalia, novalia. (2014). Studi Awal Ekstraksi Batch Daun Stevia Rebaudiana Bertoni dengan Variabel Jenis Pelarut dan Temperatur. *Jurnal Online Universitas Katolik Parahyangan*, 2.
- Depkes RI. (2000). Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat, Jakarta: Departement Kesehatan Republik Indonesia. *Edisi IV*.
- Diana, A., Jumaeri, P. □, Mahatmanti, D. F. W., Kimia, J., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. (2019). Indonesian Journal of Chemical Science Uji Daya Antibakteri Gel Hand Sanitizer Minyak Atsiri Seledri (*Apium graveolens*). *J. Chem. Sci*, 8(1).
- Dwidjoseputro, D. (1985). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. DJambatan.
- Ergina, Nuryanti, S., & Purtsari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave*). *J. Akad. Kim*, 3(3).
- Fatimah, F., Martha, R. D., & Kusumawati, A. (2020). Deteksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete*) dengan LCMS. *CHEESA: Chemical Engineering Research Articles*, 3(2), 88. <https://doi.org/10.25273/cheesa.v3i2.7688.88-98>
- G, B. (1992). Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan Edisi 16. In *Buku Kedokteran EGC*.
- Guenther, E., Kataren, S., & Hardjo, S. (1987). Minyak Atsiri Jilid I. In *LIPI Press* (Vol. 9, Issue 2).
- Gunawan, G., & Sulistia. (2007). *Farmakologi dan Terapi edisi 5*. Departemen farmakologi dan terapeutik FKUI.
- Gunawan, T. S., & Christianto, G. M. (2020). Rekam Medis/Kesehatan Elektronik (RMKE): Integrasi Sistem Kesehatan. *Jurnal Etika Kedokteran Indonesia*, 4(1). <https://doi.org/10.26880/jeki.v4i1.43>
- Harborne, J. B. (1987). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. *Penerbit ITB, Bandung*.
- Hargono, H., Nurcahyaningih, I., & Candra, P. D. (2021). PENGARUH SENYAWA DELIGNIFIKASI DAN HIDROLISIS ASAM DENGAN PENAMBAHAN FeSO₄ PADA PRODUKSI GLUKOSA DARI

- SPIRODELA POLYRHIZA. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 6(2).
<https://doi.org/10.31942/inteka.v6i2.4888>
- Hernani, M. Y., Mufrod, M., & Sugiyono, S. (2017). FORMULASI SALEP EKSTRAK AIR TOKEK (Gekko gecko L.) UNTUK PENYEMBUHAN LUKA. *Majalah Farmaseutik*, 8(1).
- Imam Ghazali. (2011). Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program IBM dan SPSS. In *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program Ibm Spss 19*.
- ISI, D. (2017). DAFTAR ISI. *Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(1).
<https://doi.org/10.36805/farmasi.v2i1.499>
- J. B. Harbone. (2006). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB.
- J.Ryan, K., & Ray, C. G. (2010). Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases. In *Clinical Infectious Disease*.
- Kusumowati, I. T. D., Melannisa, R., & Prasetyawan, A. (2014). DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SENGGANI (*Melastoma affine* D. Don). *Biomedika*, 6(2).
<https://doi.org/10.23917/biomedika.v6i2.278>
- Lailatul, M., Santi, M., Triska Susila, N., & Rondius, S. (2013). Efek Anti Radang dan Toksisitas Akut Ekstrak Daun Jintan (*Plectranthus amboinicus*) pada Tikus yang Diinduksi Arthritis. *Makara Seri Kesehatan*, 17(1), 33–40.
- Lenny, H. (2018). Kimia Bahan Organik Alam. *Pascasarjana UNPAK*.
- Leono, L. V., Edyson, & Budiarti, L. Y. (2020). Perbandingan aktivitas daya hambat sediaan tunggal dengan kombinasi infus *Phyllanthus niruri* dan *Peperomia pellucida* terhadap *Staphylococcus aureus*. *Homeostasis*, 3(1), 75–82.
- Malik, A., Edward, F., & Waris, R. (2016). SKRINING FITOKIMIA DAN PENETAPAN KANDUNGAN FLAVONOID TOTAL EKSTRAK METANOLIK HERBA BOROCO (*Celosia argentea* L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(1). <https://doi.org/10.33096/jffi.v1i1.193>
- Mangurana, W. O. I., Yusnaini, Y., & Sahidin, S. (2019). ANALISIS LC-MS/MS (Liquid Chromatograph Mass Spectrometry) DAN METABOLIT SEKUNDER SERTA POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK n-HEKSANA SPONS *Callyspongia aerizusa* YANG DIAMBIL PADA KONDISI TUTUPAN TERUMBU KARANG YANG BERBEDA DI PERAIRAN TELUK STARING. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2).
<https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1126>
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Institut Teknologi Bandung.
- Maulida, D., & Zulkarnaen, N. (2010). Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran, N – Heksana, Aseton, dan Etanol. *Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik*.

- MULYATNI, A. S., BUDIANI, A., & TANIWIRYONO, D. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. *E-Journal Menara Perkebunan*, 80(2). <https://doi.org/10.22302/ppbbi.jur.mp.v80i2.39>
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2). <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
- Nuria, M., Faizatun, A., & Sumantri. (2009). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jattopha curcas* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro*, 26(2).
- Oktavia, J. D. (2011). "Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Analisis Sidik Jari Dengan Kromatografi Lapis Tipis". In *Skripsi IPB*.
- Pascucci, D., Megna, N., Panichi, M., & Baldassi, S. (2011). Acoustic cues to visual detection: A classification image study. *Journal of Vision*, 11(6). <https://doi.org/10.1167/11.6.7>
- Pawarta, D. M., Duwi Fanata, W. I., Subroto, G., & Sulistyaningsih, N. (2019). PENGARUH KONSENTRASI DAN INTERVAL PENYEMPROTAN PUPUK CAIR DARI LIMBAH KARET TERHADAP PERTUMBUHAN DAN HASIL BAWANG MERAH (*Allium ascalonicum* L.). *Berkala Ilmiah Pertanian*, 2(3). <https://doi.org/10.19184/bip.v2i3.16284>
- Pelczar, M. J. (1986). Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1. *Jakarta: Universitas Indonesia*.
- Perawati, S., Anggresani, L., Swinche, U. D., & Hartesi, B. (2020). Isolasi senyawa antibakteri dari batang sembung rambat (*Mikania cordata* (Burm.fil.)). *Riset Informasi Kesehatan*, 9(1). <https://doi.org/10.30644/rik.v9i1.388>
- Pertiwi, D. V., Ikhsanudin, A., & Sugihartini, N. (2017). FORMULASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN HIDROGEL MINYAK CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) BERBASIS KITOSAN. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 14(1). <https://doi.org/10.12928/mf.v14i1.9831>
- Ploutz, L. L., Gilders, R. M., & Hangerman, F. C. (1990). 213 HYPEROXIC TRAINING. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 22(2). <https://doi.org/10.1249/00005768-199004000-00213>
- Pranata, F. S. (1997). *No Isolasi alkaloid dari bahan alam*Title. Universitas Atma Jaya.
- Prasko, P., Sutomo, B., Suwarsono, S., & Supardan, I. (2015). DAYA HAMBAT DAUN ALPUKAT MUDA TERHADAP BAKTERI MULUT (*STREPTOCOCCUS MUTANS*). *Jurnal Kesehatan Gigi*, 2(2). <https://doi.org/10.31983/jkg.v2i02.3299>

- Pratiwi, S. T. (2008). Mikrobiologi Farmasi, Erlangga. In *Jakarta* (Vol. 150).
- Prawirodihardjo, E. (2014). Uji aktivitas antioksidan dan uji toksisitas ekstrak etanol 70% dan ekstrak air laut batang kayu jawa (*lannea coromandelica*). *Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Uin Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- RI, D. (2014). Farmakope Indonesia edisi V. In *Departemen Kesehatan Republik Indonesia* (Vol. 2, Issue 5).
- Rijayanti, R. P., Luliana, S., & Trianti, rudi fajar. (2014). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO. *Naskah Publikasi Universitas Tanjungpura*, 1(1).
- Risnasari, I. (2002). *Tanin*. USU.
- Roderick, W. R. (1963). The organic constituents of higher plants: Their chemistry and interrelationships (Robinson, Trevor). *Journal of Chemical Education*, 40(12). <https://doi.org/10.1021/ed040pa983>
- Sari, R. D. (2015). SEKITAR PERAKARAN TANAMAN ISOLATION AND IDENTIFICATION SOIL BACTERIA AROUND PLANT ROOTS Dwi Ratna Sari. *Bio-Site*, 01(1).
- Sarlina, S., Razak, A. R., & Tandah, M. R. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Daun Sereh (*Cymbopogon nardus L. Rendle*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Jerawat. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 3(2). <https://doi.org/10.22487/j24428744.0.v0.i0.8770>
- Septia Ningsih, D., Henri, H., Roanisca, O., & Gus Mahardika, R. (2020). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baeckea frutescens L.*). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(3). <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.03.06>
- Setiari, N. M. N., Ristiati, N. P., & Warpala, I. W. S. (2019). Aktivitas Antifungi Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dan Ekstrak Kulit Buah Jeruk (*Citrus reticulata*) Untuk Menghambat Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 6(2).
- Setyani, W., Setyowati, H., & Ayuningtyas, D. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Terstandarisasi Daun Som Jawa (*Talinum paniculatum (Jacq.) Gaertn*) Dalam Sediaan Krim Antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, 13(01). <https://doi.org/10.24071/jpsc.2016.130107>
- Sidabutar, H., & Hutapea, R. H. (2020). Sikap Kritis Manusia Di Masa Pandemi COVID-19 Dalam Perspektif Filsafat Pendidikan. *Widyadewata*, 3(2).
- Silalahi, M. (2018). *Plectranthus Amboinicus (Lour.) Spreng* Sebagai Bahan Pangan Dan Obat Serta Bioaktivitasnya. *Jurnal Dinamika Pendidikan*, 11(2), 123. <https://doi.org/10.33541/jdp.v11i2.810>

- Sinulingga, B. (2011). Isolasi dan Analisis Komponen Kimia Minyak Atsiri dari Daun Jinten (*Coleus Aromaticus* Benth) dengan GC-MS dan Uji Antibakteri. *Universitas Sumatra Utara*.
- Siti Aminah Hasibuan. (2016). Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, May*.
- Subaidi, A. (2016). Self-Efficacy Siswa Dalam Pemecahan Masalah Matematika. *Sigma*, 1(2).
- Sudarmadji, S., Haryono, B., & Suhardi. (1997). Prosedur analisa untuk bahan makanan dan pertanian. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 4(3).
- Sugiyono. (2019). METODE PENELITIAN PENDIDIKAN. In *Bandung:Alfabeta*.
- Suryaku, N. I. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air dari Ekstrak Etanolik Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Skripsi,. In *Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta*.
- Syamsuhidayat, & Hutapea, J. R. (1991). Inventaris Tanaman Obat Indonesia. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan , Jakarta*.
- Tan Hoan Tjay & Kirana Rahardja. (2010). Obat-obat penting: khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya - Google Buku. In *Badan pengawas obat dan makanan, Indonesia*.
- Tiwari, P., Kumar, B., Mandeep, K., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1).
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2007). Obat Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya. In *Obat Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*.
- Udayani, N. N. W., & Meriyani, H. (2016). PERBEDAAN EFEKTIVITAS PENGGUNAAN OBAT ANTIDIABETIK ORAL TUNGGAL DENGAN KOMBINASI PADA PASIEN DM TIPE 2 DI UPT. PUSKESMAS DAWAN II KABUPATEN KLUNGKUNG PERIODE NOVEMBER 2015-PEBRUARI 2016. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 2(2). <https://doi.org/10.36733/medicamento.v2i2.1096>
- Vogeser, M., & Seger, C. (2008). A decade of HPLC-MS/MS in the routine clinical laboratory - Goals for further developments. In *Clinical Biochemistry*(Vol. 41, Issue 9). <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.02.017>
- Wardhani, D. P., Sugianto, L. O., & Widyaningrum, P. W. (2020). Edukasi dan Pelatihan Investasi Pasar Modal Indonesia di Kelurahan Sukorejo. *Budimas*, 02(02).

- Wijayanti, E. D., & Susilowati, E. (2017). Eksplorasi Ekstrak Etanol Beberapa Tumbuhan Berpotensi Sebagai Antiketombe. *JRST: JURNAL RISET SAINS DAN TEKNOLOGI*, 1(2). <https://doi.org/10.30595/jrst.v1i2.1671>
- World Health Organization (WHO). (2010). *ATLAS on substance use (2010). Manegement of Substance Abuse.*
- Yasjudani. (2017). Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni (Swietenia mahagoniL.)Terhadap Beberapa Mikroba Patogen. *Universitas Nusantara PGRI Kediri, 01.*
- Zalfiatri, Y., Hamzah, F., & Simbolon, M. T. (2018). PEMBUATAN SABUN TRANSPARAN DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK BATANG PEPAYA SEBAGAI ANTIBAKTERI. *CHEMPUBLISH JOURNAL*, 3(2). <https://doi.org/10.22437/chp.v3i2.5713>



LAMPIRAN

Lampiran 1 Determinasi tanaman daun jinten


PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
 Jl. Lahor 87 Kota Batu
 Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
 Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
 Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/053/102.7-A/2022
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Daun Jinten**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : AYU INSA FAJRI / 1813206004
 NASA BELA DWI LESTARI / 183206019
 Fakultas : S1 FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA

1. Perihal determinasi tanaman daun jinten

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Genus	: <i>Plectranthus</i>
Spesies	: <i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng.
Sinonim	: <i>Coleus amboinicus</i> Lour.
Nama Daerah	: Daun Jinten (Indonesia), bangun-bangun (Batak), sukan (Melayu), ajiran (Sunda), daun jinten (Jawa Tengah), daun kambing (Madura), iwak kumu etu (Timor).

2. Morfologi

: Habitus: terna tahunan, pangkal berkayu, dan mencapai tinggi 1 m. Batang: beruas, batang keluar dari ruas yang menyentuh tanah. Daun: tunggal, berdaging, berbentuk bulat telur, ujung dan pangkalnya runcing dengan tepian bergerigi/beringgit, kecuali pada bagian pangkal, pertulangan menyirip, dan bercabang-cabang membentuk seperti jala; permukaannya berambut tebal, seperti beludru berwarna putih; panjang 5-7 cm, dan lebar 4-6 cm; warnanya hijau muda, jika diremas berbau harum. Bunga majemuk berupa tandan, panjang 20 cm, keluar dari ujung percabangan dan ketiak daun, warna biru keunguan. Biji: keras, gepeng, dan berwarna coklat muda.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. II. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 20 Januari 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
 MATERIA MEDICA BATU


 AHMAD MAHRUR, SKM, M.Kes.
 PEMBINA
 NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 2 Sertifikat bakteri *Staphylococcus aureus*
KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

 Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388
 Website : bblksurabaya.id; Surat elektronik : bblksurabaya@yahoo.co.id


Surabaya, 22 April 2022

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Mita Uly Andini
 Institusi : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 04 April 2022
 Keperluan : Penelitian skripsi dengan judul, "Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L.) dan Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*."

Keterangan jenis strain

Bakteri : *Staphylococcus aureus*
 ATCC : ATCC 25923
 Passage : #3

Hasil Uji Biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

No	Jenis Uji	Hasil
1	Pengecatan Gram	Gram positif coccus bergerombol
2	Glukose	Positif (+)
3	Sukrose	Positif (+)
4	Manitol	Positif (+)
5	Katalase	Positif (+)
6	Koagulase	Positif (+)
7	DNase	Positif (+)
8	Haemolisa	β Haemolitik

Manajer Teknis

 dr. Titiek S, M.Ked Klin, Sp.MK
 NIP. 198207262010122002

 Management System
 ISO 9001:2015
 www.tuv.com
 ID #: 0502057


Lampiran 3 Dokumentasi penelitian

Penanaman daun jinten



Penghalusan simplisia



Penimbangan serbuk simplisia



Ekstrak metode maserasi



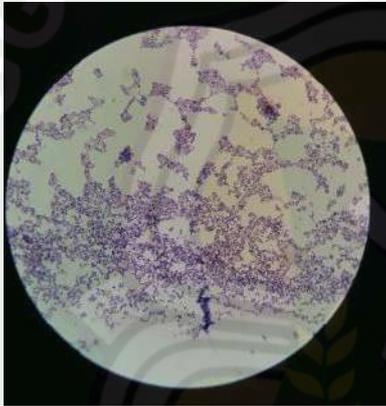
Fraksinasi



Hasil evaporasi



Hasil Skrinning Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*)



Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

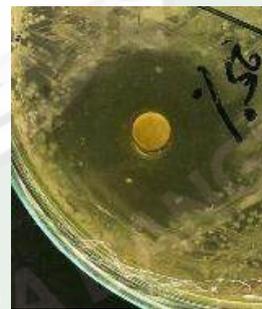
Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*)
Konsentrasi 15%, 20%, 25%



Konsentrasi 15%

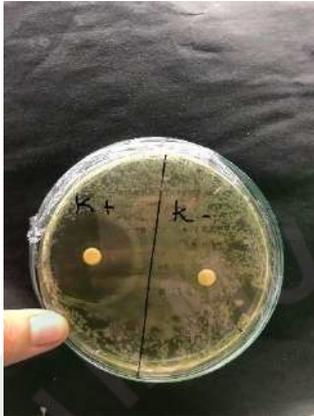


konsentrasi 20%



konsentrasi 25%

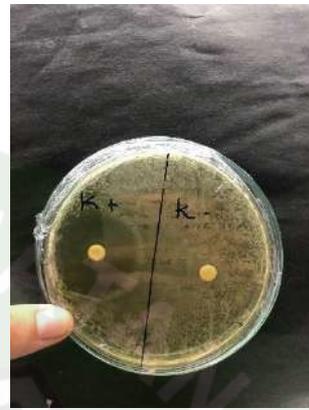
Uji Aktivitas antibakteri Kontrol (-) dan Kontrol (+)



Replikasi ke-1



Replikasi ke-2

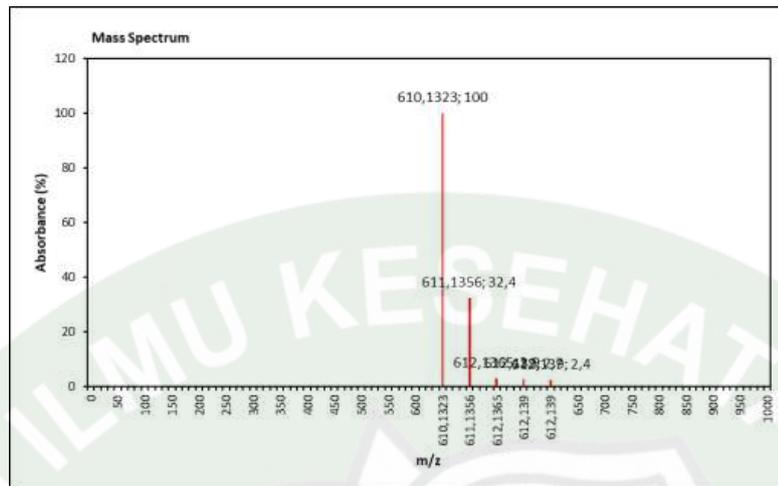


Replikasi ke-3

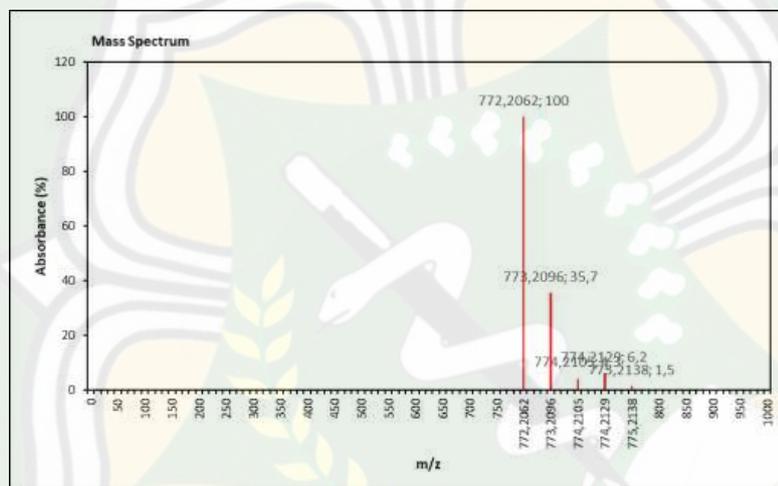
SEKOLAH TINGGI

KARYA PUTRA BANGSA - TULUNGAGUNG

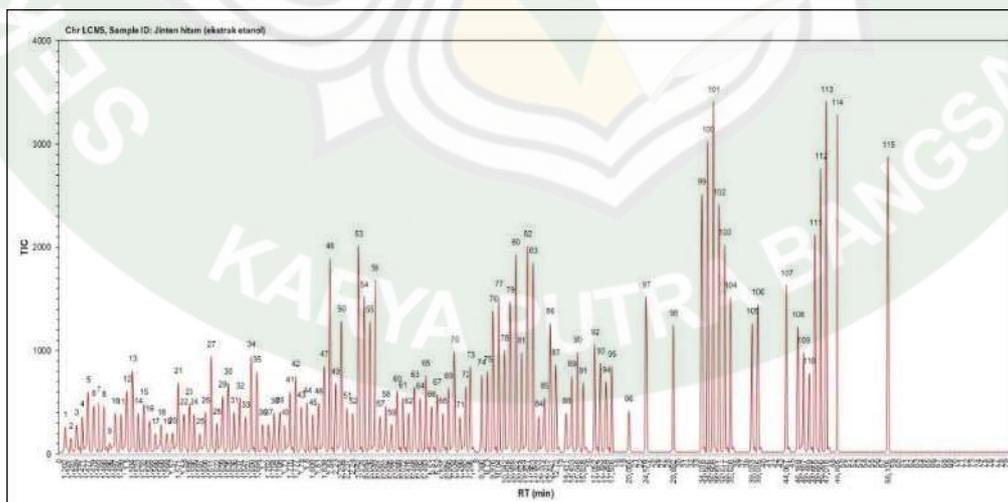
Lampiran 4 Hasil uji LC-MS



Hasil Mass Spectrometri Senyawa kaempferol 3-(6''- caffeoylglucoside)



Hasil Mass Spectrometri Senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1
→ 2)galactosyl-(1→2)-glucoside



Hasil Liquid Chromatogram

Lampiran 5 Perhitungan

Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

$$\text{Bobot NB} = \frac{BM}{1000} \text{Volume}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot NB} &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,08 \text{ gram} \end{aligned}$$

2. Perhitungan Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

$$\text{Bobot NA} = \frac{BM}{1000} \text{Volume}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot NB} &= \frac{20}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ gram} \end{aligned}$$

Pembuatan Larutan Uji

1. Konsentrasi 15%

$$\text{Bobot ekstrak} = \frac{15}{100} \text{Volume}$$

$$= \frac{15}{100} 2 \text{ ml}$$

$$= 0,3 \text{ gram}$$

2. Konsentrasi 20%

$$\text{Bobot ekstrak} = \frac{20}{100} \text{Volume}$$

$$= \frac{20}{100} 2 \text{ ml}$$

$$= 0,4 \text{ gram}$$

3. Konsentrasi 25%

$$\text{Bobot ekstrak} = \frac{25}{100} \text{Volume}$$

$$\text{Bobot ekstrak} = \frac{25}{100} 2\text{ml}$$

=0,5 gram



Lampiran 6 Hasil Orientasi

1. Uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Rep I	Rep II	Rep III	Rata-rata	Keterangan
15%	15,5mm	18mm	17mm	16,8mm	Kuat
20%	25mm	25,5mm	19mm	23,1mm	Sangat kuat
25%	23mm	19,5mm	16,5mm	19,6mm	Kuat
K (+)	30,5mm	37mm	34,5mm	34mm	Sangat kuat
K (-)	0mm	0mm	0mm	0mm	-

Keterangan: K(+) Kloramfenikol 1%, K(-) DMSO 5%



Lampiran 7 Hasil Analisis

1. Uji Normalitas

Tests of Normality ^b							
	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat (mm)	15%	.219	3	.	.987	3	.780
	20%	.361	3	.	.807	3	.132
	25%	.187	3	.	.998	3	.915
	K(+)	.227	3	.	.983	3	.747

a. Lilliefors Significance Correction

b. Diameter Zona Hambat (mm) is constant when Konsentrasi = K(-). It has been omitted.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances				
Diameter Zona Hambat (mm)				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2.626	4	10	.098

3. Uji *One Way* ANOVA

ANOVA					
Diameter Zona Hambat (mm)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1824.433	4	456.108	63.348	.000
Within Groups	72.000	10	7.200		
Total	1896.433	14			

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Diameter Zona Hambat (mm)						
Tukey HSD						
(I) Konsentrasi	(J)	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	Konsentrasi	(I-J)	Error		Lower Bound	Upper Bound
15%	20%	-6.33333	2.19089	.093	-13.5437	.8771
	25%	-2.83333	2.19089	.701	-10.0437	4.3771
	K(+)	-17.16667*	2.19089	.000	-24.3771	-9.9563
	K(-)	16.83333*	2.19089	.000	9.6229	24.0437
20%	15%	6.33333	2.19089	.093	-.8771	13.5437
	25%	3.50000	2.19089	.530	-3.7104	10.7104

	K(+)	-10.83333*	2.19089	.004	-18.0437	-3.6229
	K(-)	23.16667*	2.19089	.000	15.9563	30.3771
	15%	2.83333	2.19089	.701	-4.3771	10.0437
	20%	-3.50000	2.19089	.530	-10.7104	3.7104
25%	K(+)	-14.33333*	2.19089	.000	-21.5437	-7.1229
	K(-)	19.66667*	2.19089	.000	12.4563	26.8771
	15%	17.16667*	2.19089	.000	9.9563	24.3771
	20%	10.83333*	2.19089	.004	3.6229	18.0437
K(+)	25%	14.33333*	2.19089	.000	7.1229	21.5437
	K(-)	34.00000*	2.19089	.000	26.7896	41.2104
	15%	-16.83333*	2.19089	.000	-24.0437	-9.6229
	20%	-23.16667*	2.19089	.000	-30.3771	-15.9563
K(-)	25%	-19.66667*	2.19089	.000	-26.8771	-12.4563
	K(+)	-34.00000*	2.19089	.000	-41.2104	-26.7896

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

Diameter Zona Hambat (mm)

Tukey HSD^a

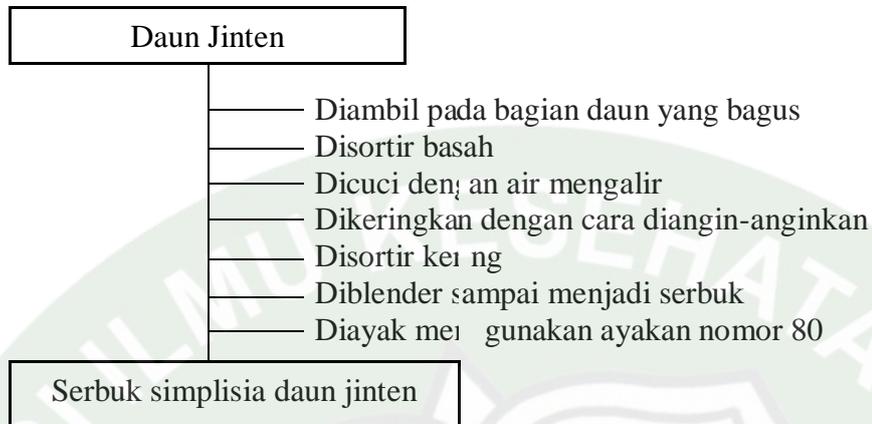
Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K(-)	3	.0000		
15%	3		16.8333	
25%	3		19.6667	
20%	3		23.1667	
K(+)	3			34.0000
Sig.		1.000	.093	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

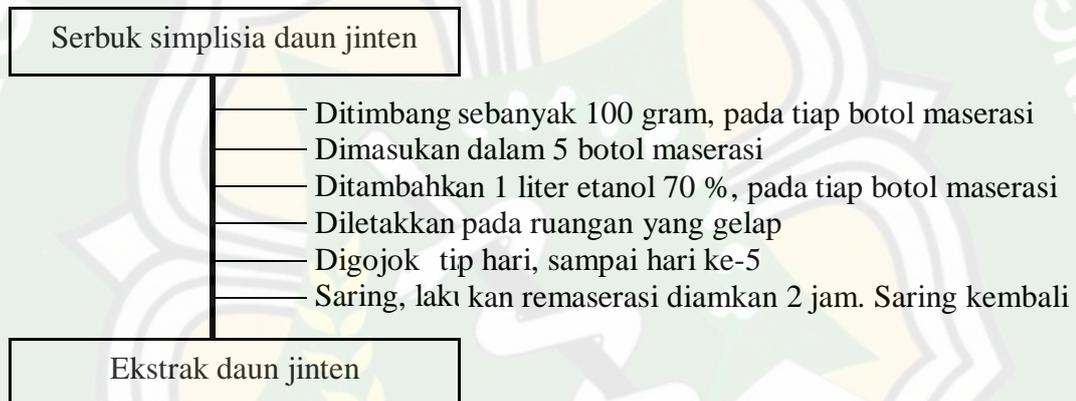
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 8 Alur prosedur kerja

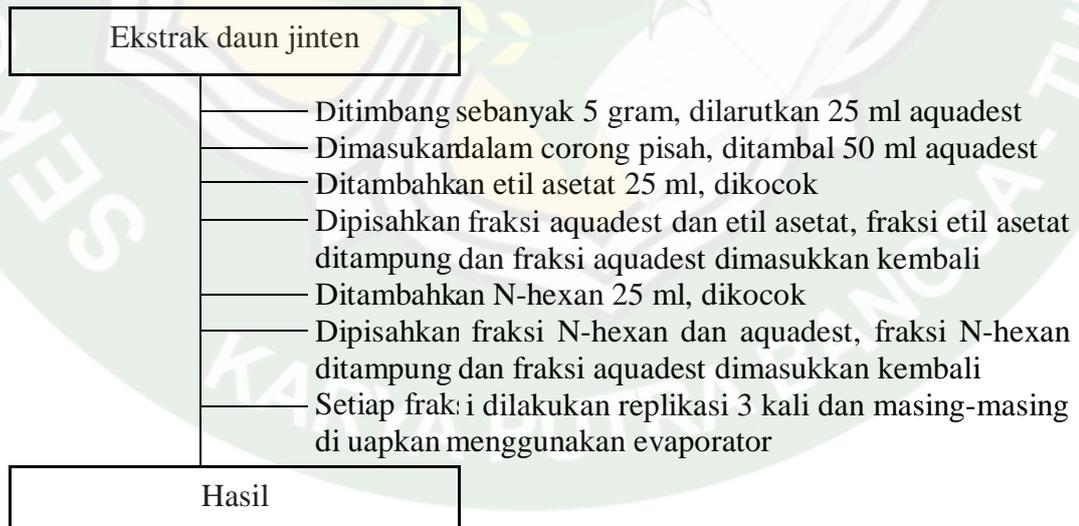
1. Pembuatan simplisia



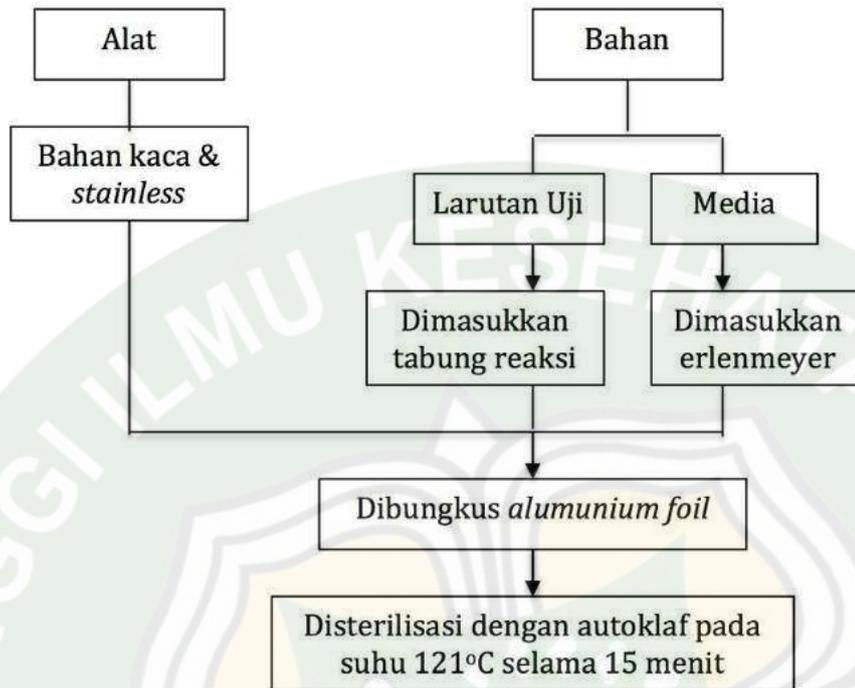
2. Pembuatan Ekstak



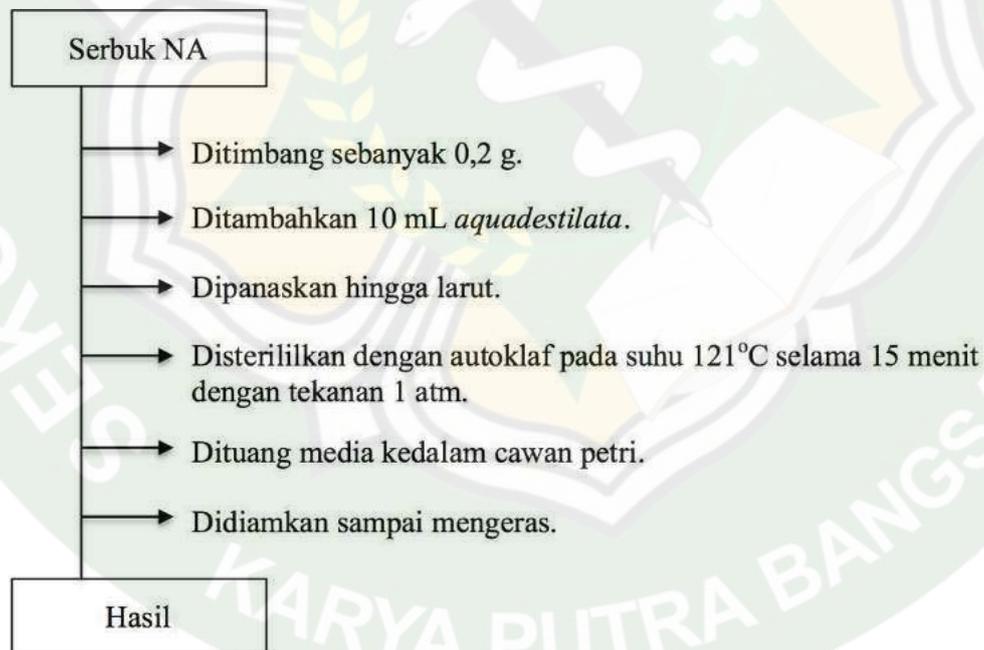
3. Fraksinasi



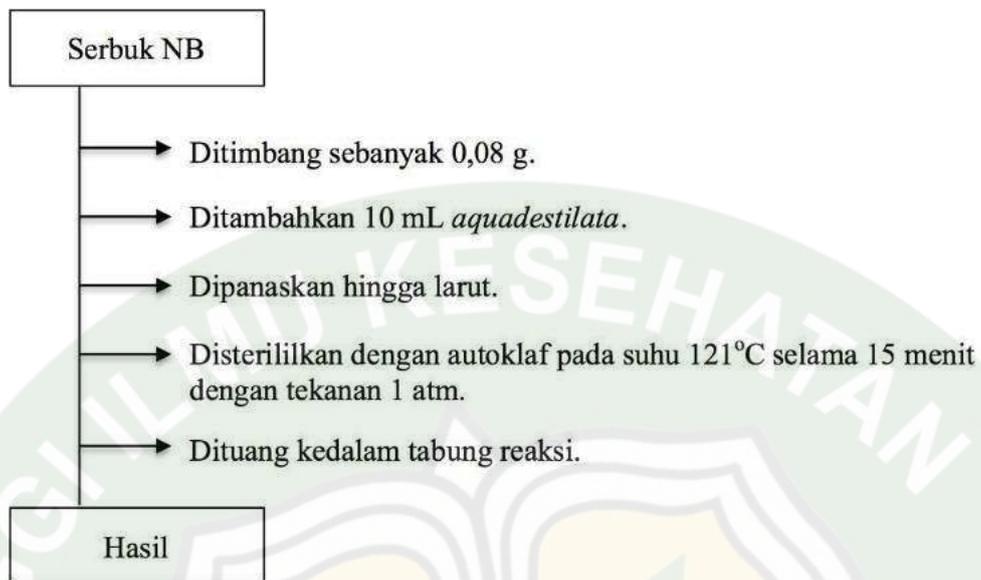
4. Sterilisasi Alat dan Bahan



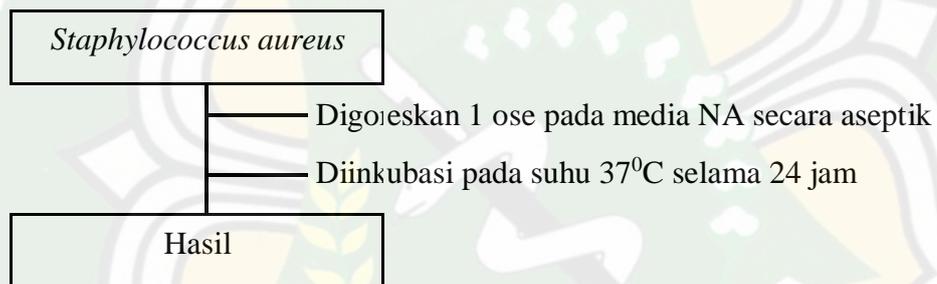
5. Pembuatan Media NA



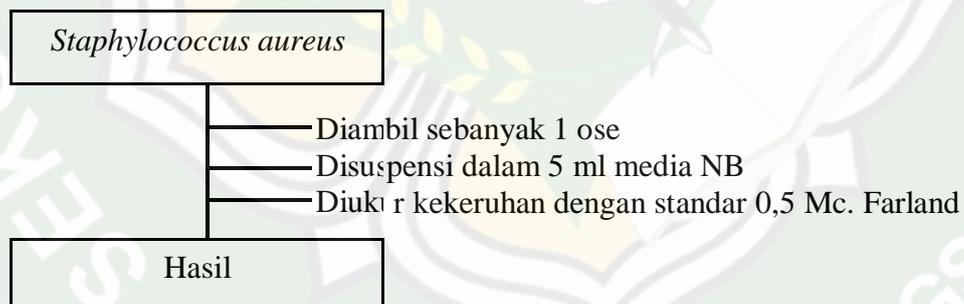
6. Pembuatan Media NB



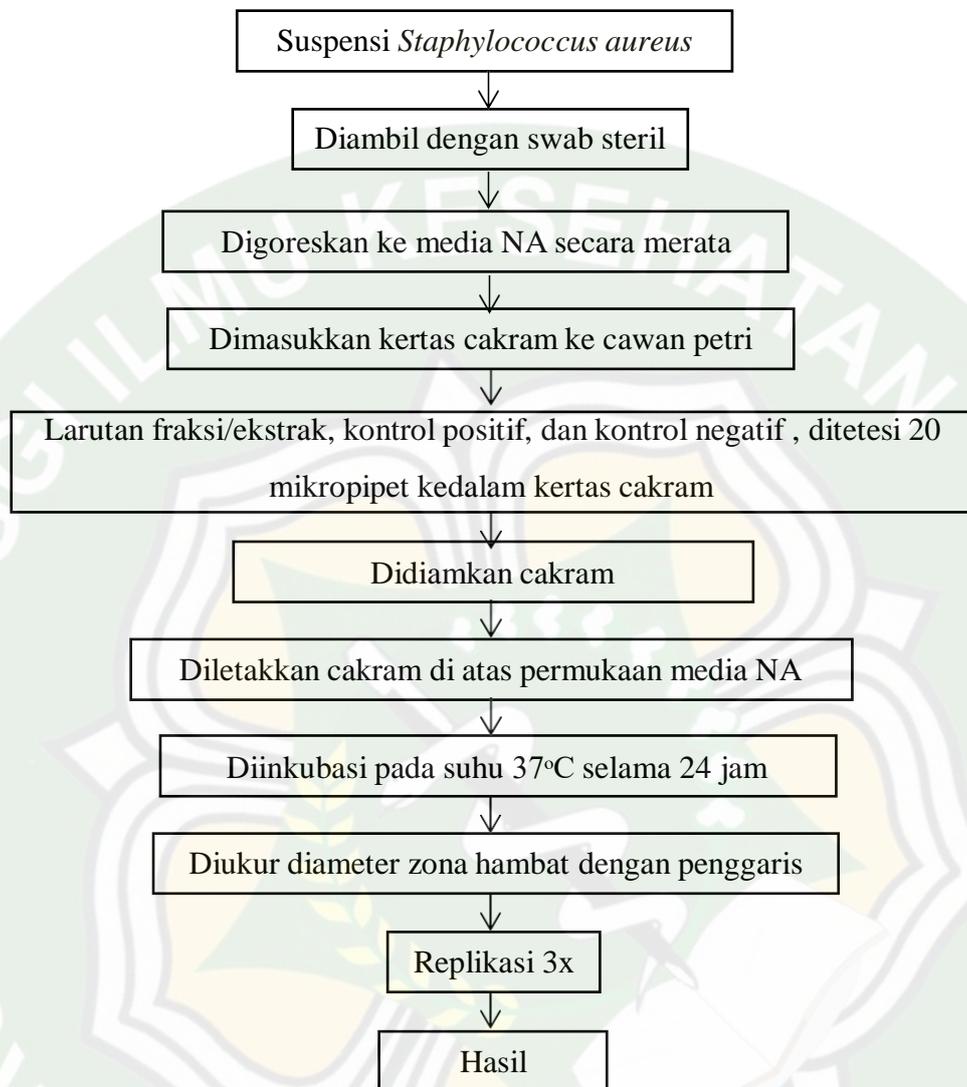
7. Peremajaan Bakteri



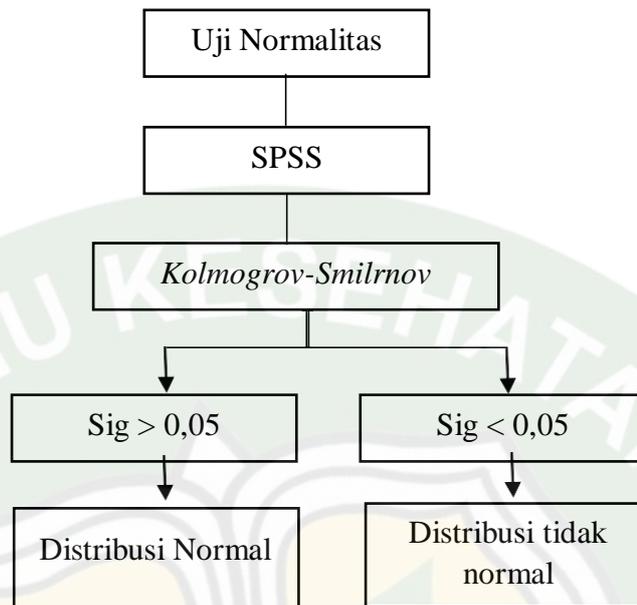
8. Pembuatan Suspensi Bakteri



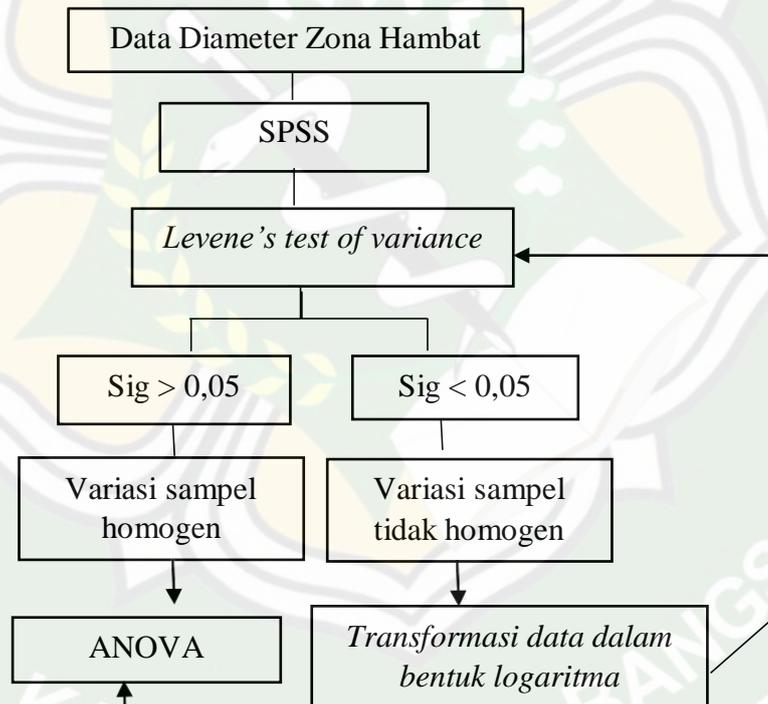
9. Uji Aktivitas Antibakteri



10. Uji Normalitas



11. Uji Homogenitas



12. *One Way ANOVA*