

**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN
JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Escherichia coli***

SKRIPSI



OLEH :

Nasa Bela Dwi Lestari

1813206019

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

2022

**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN
JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Escherichia coli***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana
Farmasi Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

Nasa Bela Dwi Lestari

1813206019

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

2022

**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
DAUN JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) SEBAGAI
ANTIBAKTETRI *Escherichia coli*.**

SKRIPSI

Yang diajukan oleh :

NASA BELA DWI LESTARI

1813206019

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc

NIDN. 07 1002910 1

Pembimbing Pendamping,



Yunita Diyah S., S.Si., M.Si

NIDN. 07 170693 02

**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK
DAUN JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) SEBAGAI
ANTIBAKTETRI *Escherichia coli*.**

SKRIPSI

Oleh :

NASA BELA DWI LESTARI

1813206019

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan dihadapan penguji
Skripsi Program S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : 12 Agustus 2022

Ketua penguji : Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc (.....)

Anggota Penguji : 1. Yunita Diyah S, S.Si.,M.Si (.....)

2. Afidatul Muadifah, S.Si.,M.Si (.....)

3. Danar, S.Si.,M.Sc (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

Apt. Arif Santoso, M.Farm

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran rahmat Allah SWT yang telah melimpahkan karunianya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan tepat waktu, dengan judul “ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN JINTEN (*Plectranthus amboinicus*) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli*” tujuan dari penyusunan skripsi ini guna untuk memenuhi syarat mencapai gelar S1 Farmasi di STIKes Karya Putra Bangsa.

Penulis ini dalam pengerjaannya juga dibantu oleh beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Arif Santoso, selaku ketua dari STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
2. Ibu Dara Pranidya Tilarso, selaku ketua Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Ibu Rahma Diyan Marta, selaku pembimbing utama yang telah memberikan ilmu, membimbing, memotivasi serta semangat selama penelitian awal hingga akhir.
4. Ibu Yunita Diyah, selaku pembimbing serta memberikan masukan, semangat dan juga ilmu kepada penulis.
5. Kedua orang tua, yang telah memberikan doanya, semangat serta dukungan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Kakak dan saudara yang telah memberikan dukungan penuh.
7. teman-teman angkatan 2018 yang telah mendoakan dan juga memberikan semangat.
8. Dan semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan-kekurangan di dalamnya. Oleh karena itu, dapat menerima kritikan dan saran yang

sifatnya membangun, demi bisa melengkapi skripsi ini menjadi lebih baik lagi. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak, semoga skripsi ini bisa bermanfaat, menambah wawasan dan juga menambah ilmu pengetahuan menjadi luas.

Tulungagung, Oktober 2021

Penulis



**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)
SENYAWA HASIL FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN JINTEN
(*Plectranthus Amboinicus*) SEBAGAI ANTIBAKTETRI**

Escherichia coli.

**NASA BELA DWI LESTARI
Prodi S1 Farmasi**

INTISARI

Keanekaragaman tersebut tidak hanya terbatas keanekaragaman hewan, tetapi juga keanekaragaman tanaman yang bisa digunakan dan dimanfaatkan sebagai obat. Salah satu tanaman di Indonesia yang digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*). Tanaman daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) ini diketahui memiliki senyawa metabolit sekunder, diantaranya senyawa metabolit alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan metode diffusi cakram, komposisi senyawa yang terdapat pada fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) menggunakan LC-MS. Uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan variasi konsentrasi yakni 15%, 20% dan 25%. Hasil yang diperoleh pada uji antibakteri metode diffusi cakram yakni pada konsentrasi 20% dengan rata-rata sebesar 30mm. Hasil dari LC-MS terdapat komposisi senyawa sebanyak 115 yang ada di daun jinten (*Plectranthus amboinicus*), Hasil Identifikasi LC-MS senyawa yang diambil dengan nilai konsentrasi komposisi tertinggi yaitu terbesar 3,26109%, dengan nama senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside), dan kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside dengan komposisi senyawa 3,26141%.

Kata kunci : Antibakteri fraksi etil asetat jinten, LC-MS

**LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) ANALYSIS OF
ETIL ACETATE COMPOUND FRACTION OF CUMIN LEAF EXTRACT
(*Plectranthus amboinicus*) AS ANTIBACTERIAL *Escherichia coli***

NASA BELA DWI LESTARI

Pharmacy S1 Study Program

ABSTRACT

Diversity is not only limited to the diversity of animals, but also the diversity of plants that can be used and utilized as medicine. One of the plants in Indonesia that is used as an ingredient in traditional medicine is the cumin plant (*Plectranthus amboinicus*). This cumin leaf plant (*Plectranthus amboinicus*) is known to have secondary metabolites, including metabolites of alkaloids, saponins, flavonoids, polyphenols and essential oils. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of cumin (*Plectranthus amboinicus*) leaves by disc diffusion method, the composition of compounds contained in the ethyl acetate fraction of dau cumin (*Plectranthus amboinicus*) extract using LC-MS. Antibacterial activity test using concentration variations of 15%, 20% and 25%. The results obtained in the disc diffusion antibacterial test were at a concentration of 20% with an average of 30mm. The results of LC-MS contained 115 compounds in cumin (*Plectranthus amboinicus*) leaves. Identification Results of LC-MS compounds were taken with the highest concentration of 3,26109%, with the name kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside compound), and kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside with a compound composition of 3.26141%.

Keywords : Antibacterial ethyl acetate fraction of cumin, LC-MS

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| KATA PENGANTAR | iv |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| 1.4.1 Bagi Peneliti | 4 |
| 1.4.2 Bagi Instansi | 4 |
| 1.4.3 Bagi Masyarakat | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 Landasan Teori | 5 |
| 2.1.1 Uraian Umum Tanaman Jinten | 5 |
| 2.1.2 Deskripsi Tanaman Jinten | 5 |
| 2.1.3 Kandungan Senyawa Tanaman jinten | 6 |
| 2.2 Ekstraksi | 6 |
| 2.3 Fraksi | 7 |
| 2.4 Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 7 |
| 2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Escherichia coli</i> | 7 |
| 2.5 Uji Metode Antibakteri | 8 |

| | |
|--|----|
| 2.5.1 Metode Dilusi <i>Disc Diffusion</i> | 8 |
| 2.5.2 Metode Dilusi Cair | 8 |
| 2.6 LC-MS (<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>) | 9 |
| 2.6.1 Deskripsi LC-MS (<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>) | 9 |
| 2.7 Hipotesis | 10 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 11 |
| 3.1 Metode Penelitian | 11 |
| 3.1.1 Alat | 11 |
| 3.1.2 Bahan | 11 |
| 3.2 Populasi Penelitian | 11 |
| 3.3 Sampel Penelitian | 11 |
| 3.4 Variabel Penelitian | 11 |
| 3.4.1 Variabel Bebas | 12 |
| 3.4.2 Variabel Kontrol | 12 |
| 3.4.3 Variabel Terikat | 12 |
| 3.5 Metode Penelitian | 12 |
| 3.5.1 Determinasi Tanaman | 12 |
| 3.5.2 Pembuatan Simplisia | 12 |
| 3.5.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia | 13 |
| 3.5.3.1 Uji Susut Pegeringan Simplisia | 13 |
| 3.5.3.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia | 13 |
| 3.5.4 Pembuatan Ekstrak Jinten | 14 |
| 3.5.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak | 14 |
| 3.5.5.1 Uji Bebas Etanol | 14 |

| | |
|--|----|
| 3.5.5.2 Rendemen | 14 |
| 3.5.6 Skrining Fitokimia | 15 |
| 3.5.6.1 Senyawa Alkaloid | 15 |
| 3.5.6.2 Senyawa Flavonoid | 15 |
| 3.5.6.3 Senyawa Saponin | 15 |
| 3.5.6.4 Senyawa Tanin | 15 |
| 3.5.7 Fraksinasi | 16 |
| 3.5.8 Pembuatan Media | 16 |
| 3.5.8.1 Sterilisasi Alat dan bahan | 16 |
| 3.5.8.2 <i>Nutrient Agar</i> (NA) | 16 |
| 3.5.8.3 <i>Nutrient Broth</i> (NB) | 16 |
| 3.5.9 Pembuatan Larutan Uji | 17 |
| 3.5.9.1 Pembuatan Larutan Uji Fraksi Daun Jinten | 17 |
| 3.5.9.2 Pembuatan Larutan Kontrol Positif | 17 |
| 3.5.9.3 Pembuatan Larutan Kontrol Negatif | 17 |
| 3.5.10 Pembuatan Suspensi Bakteri | 17 |
| 3.5.11 Uji Aktivitas Antibakteri | 18 |
| 3.5.11.1 Metode Difusi Cakram | 18 |
| 3.5.12 Pengukuran Zona Hambat..... | 18 |
| 3.5.12.1 Klasifikasi Zona Hambat | 18 |
| 3.5.13 Uji Senyawa Hasil Fraksi n-Heksan Ekstrak Daun Jinten | 19 |
| 3.5.14 Analisis Statistika..... | 19 |
| 3.5.14.1 Uji Normalitas Data | 19 |
| 3.5.14.2 Uji Homogenitas..... | 19 |
| 3.5.14.3 Uji <i>One way anova</i> | 19 |
| 3.5.15 Kerangka Penelitian | 21 |

| | |
|--|----|
| BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 23 |
| 4.1 Determinasi Tanaman | 23 |
| 4.2 Pembuatan Simplisia | 24 |
| 4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia | 24 |
| 4.3.1 Uji Susut Pengerinan | 24 |
| 4.3.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia | 25 |
| 4.4 Pembuatan Ekstrak Jinten | 26 |
| 4.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak | 26 |
| 4.5.1 Uji Bebas Etanol | 26 |
| 4.5.2 Uji Rendemen | 27 |
| 4.6 Skrining Fitokimia | 28 |
| 4.6.1 Senyawa Alkaloid | 29 |
| 4.6.2 Senyawa Flavonoid | 29 |
| 4.6.3 Senyawa Saponin | 29 |
| 4.6.4 Senyawa Tanin | 30 |
| 4.7 Fraksinasi | 30 |
| 4.8 Uji LC-MS | 30 |
| 4.9 Aktivitas Antibakteri dan Pengukuran Zona Hambat | 32 |
| BAB V PENUTUP | 36 |
| DAFTAR PUSTAKA | 37 |

DAFTAR TABEL

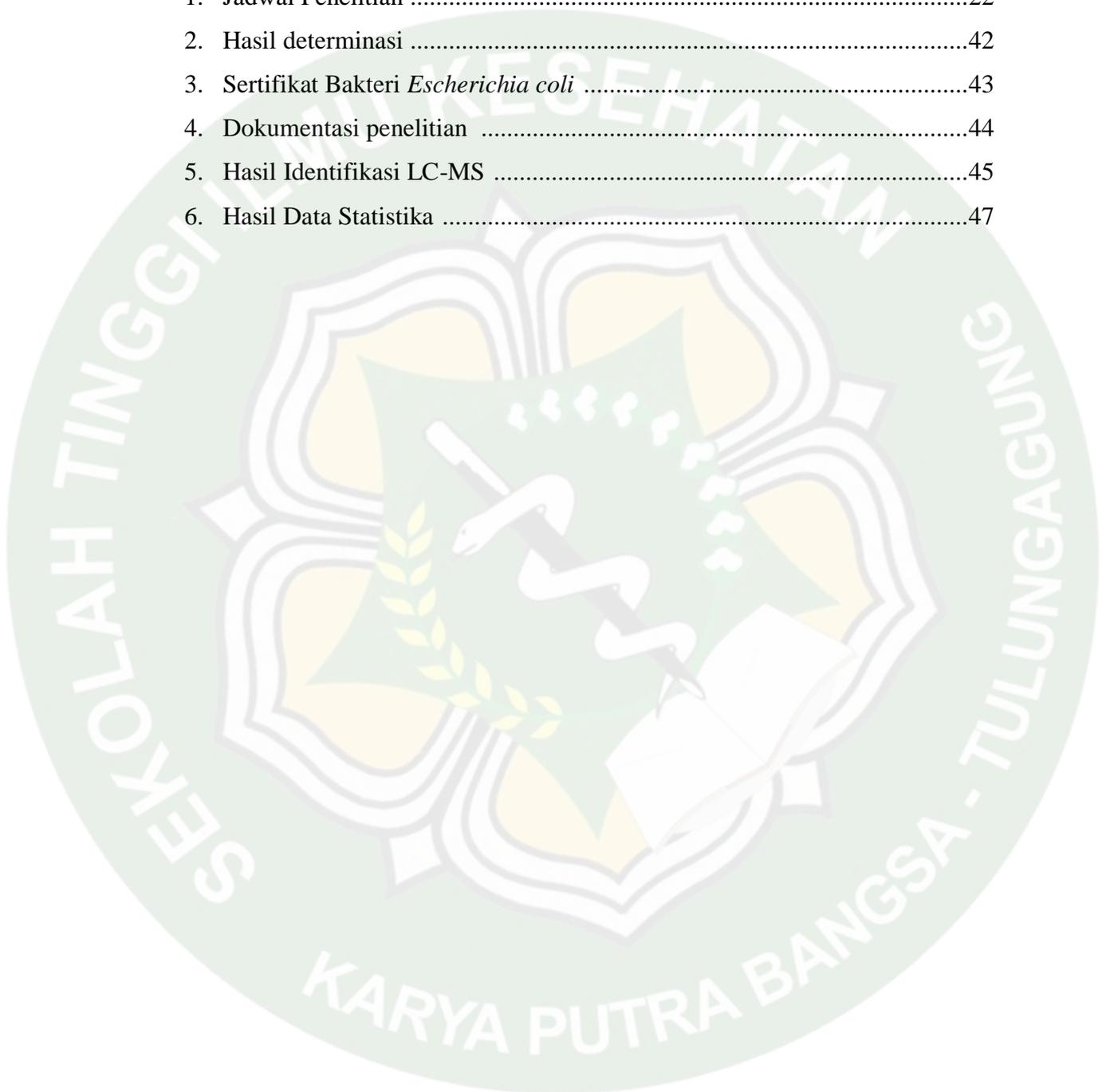
| | |
|--|----|
| 3.1 Pengukuran Zona Hambat | 17 |
| 4.1 Uji Susut Pengerinan Simplisia | 25 |
| 4.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia | 25 |
| 4.3 Uji Bebas Etanol | 27 |
| 4.4 Uji Rendemen | 27 |
| 4.5 Skrining Fitokimia | 28 |
| 4.6 Diameter Zona Hambat Antibakteri | 32 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| 2.1 Tanaman Jinten | 6 |
| 2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 8 |
| 3.1 Skema Kerangka Penelitian | 21 |
| 4.1 Uji Bebas Etanol | 27 |
| 4.2 Skrining Fitokimia | 28 |
| 4.3 reaksi senyawa Alkaloid | 29 |
| 4.4 reaksi senyawa flavonoid | 30 |
| 4.5 reaksi senyawa saponin | 31 |
| 4.6 reaksi senyawa tanin..... | 32 |
| 4.7 Hasil Kromatogram LC-MS | 33 |
| 4.9 Struktur Senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside) | 34 |
| 4.9 Struktur Senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1-2)galactosyl-(1-2)-glucoside . | 34 |
| 4.8 grafik | 35 |
| 4.10 mass spectrum Senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside) | 37 |
| 4.11 mass spectrum Senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1-2)galactosyl-(1-2)- glucoside | 38 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| 1. Jadwal Penelitian | 22 |
| 2. Hasil determinasi | 42 |
| 3. Sertifikat Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 43 |
| 4. Dokumentasi penelitian | 44 |
| 5. Hasil Identifikasi LC-MS | 45 |
| 6. Hasil Data Statistika | 47 |



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan mega biodiversitas di Dunia. Keanekaragaman tersebut tidak hanya terbatas keanekaragaman hewan, tetapi juga keanekaragaman tanaman yang bisa digunakan dan dimanfaatkan sebagai obat. Seiring dengan kemajuan zaman, kebiasaan menggunakan obat-obatan buatan industri sering digemari. Hal ini disebabkan obat-obatan tersebut bereaksi lebih cepat untuk mengatasi penyakit dibanding obat tradisional, sehingga obat-obatan tradisional mulai ditinggalkan oleh masyarakat. Kekurangan pada obat kimia mempunyai efek samping yang cenderung besar, dan memberikan efek yang negatif dengan jangka panjang jika dikonsumsi, terkadang memerlukan pengawasan medis (Marwati dan Amidi, 2018). Kelebihan dari obat tradisional antara lain harganya lebih murah, teknik pengobatannya yang sederhana, penggunaan obat tradisional yang relatif aman tidak memerlukan pengawasan yang cukup ketat, pengobatannya tidak memerlukan tenaga medis, efek sampingnya yang relatif rendah (Alaydrus, 2020).

Salah satu tanaman di Indonesia yang digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah tanaman jinten (*Plectranthus amboinicus*). Tanaman jinten merupakan tanaman yang ditemukan di India, Ceylon, Afrika Selatan. Dengan memiliki ciri salah satunya daun tebal, lebih tegak, bentuk daunnya bulat telur (Yuniarachma, 2019). Tanaman daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) ini diketahui memiliki senyawa metabolit sekunder, diantaranya senyawa metabolit alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri (Muniroh, 2013). Senyawa-senyawa tersebut diperoleh dengan cara ekstraksi yaitu metode maserasi.

Maserasi merupakan sebuah metode ekstraksi dengan proses perendaman suatu ekstrak dengan pelarut yang telah ditentukan dan sesuai untuk pengambilan senyawa aktif dengan atau tanpa adanya pemanasan (Chairunnisa,

2019). Pada proses maserasi terdapat kelebihan dan juga kekurangan, untuk kelebihannya sendiri itu mampu menarik suatu senyawa aktif yang di ekstrak tersebut tidak mengalami kerusakan, dan tentu aman bagi senyawa yang tidak tahan oleh pemanasan dan labil (BPOM, 2012). Untuk kekurangannya, pada proses maserasi menggunakan suhu ruang menimbulkan proses dari ekstraksi kurang sempurna dan akibatnya senyawa yang ada tidak bisa larut sempurna.

Berdasarkan penelitian Menurut Kaban (2018), daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dapat digunakan sebagai antioksidan dan antibakteri karena terdapat senyawa metabolit sekunder flavonoid dan polifenol. Pada daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang merupakan zat yang dapat membunuh maupun menghambat pertumbuhan bakteri salah satunya yaitu bakteri *Escherichia coli* yang dapat menimbulkan infeksi (Achroni, 2012). Infeksi saluran kemih (ISK) sekitar 85% dan infeksi nosokomial sekitar 50% di masyarakat disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Firizki, 2013). Bakteri *Escherichia coli* juga merupakan bakteri gram negatif dan penyebab utama diare karena bakteri tersebut menghasilkan *enterotoksin* yang terikat didalam mukosa usus halus (Suryati, 2017). Antibakteri merupakan suatu senyawa dalam konsentrasi kecil yang diproduksi oleh mikroorganisme yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Obat yang digunakan untuk menangani infeksi dari bakteri yang paling sering digunakan adalah antibiotik. Antibiotik memiliki efek utama terapeutik mampu menyerang organisme infeksius dan mengeliminasi bakteri lain tetapi bukan penyebab suatu penyakit (Amin, 2014).

Pemilihan etil asetat pada penelitian ini, menurut (Agustianasari, I. et.al., 2015), bahwa hasil fraksi etil asetat nilai yang dihasilkan memiliki daya antibakteri lebih baik dan efektif dibanding air dan n-heksan dengan sampel biji dari jinten, sedangkan bagian daun belum terdapat penelitian sebagai antibakteri dengan cara difraksi. Metode fraksinasi sebagai pemisahan suatu komponen-komponen senyawa aktif yang terdapat dari ekstrak. Identifikasi senyawa penyusun dalam daun jinten belum dilakukan.

Uji menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*), memiliki keuntungan yakni mampu menganalisis lebih luas dari berbagai komponen, seperti protein, senyawa termal yang labil, bermassa molekul tinggi, kemudian polaritas tinggi. Prinsip LC-MS yaitu pemisahan sebuah analit yang berdasarkan kepolarannya, kolom sebagai fase diamnya dan larutan sebagai fase gerak tekanan tinggi gunannya mendorong fase gerak (Himawan, 2010).

Berdasarkan latar belakang diatas, penulis ingin mengetahui tentang uji aktivitas antibakteri dari hasil fraksi daun jinten(*Plectranthus amboinicus*), sehingga perlu dilakukan penelitian dengan judul “Analisis LC-MS Senyawa Hasil Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan diatas tersebut, maka terdapat permasalahan dalam penelitian ini yaitu :

- a. Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun jinten(*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ?
- b. Bagaimana perbandingan konsentrasi fraksi ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) 15%, 20%, dan 25% yang memiliki zona hambat optimum antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ?
- c. Berapa jumlah komposisi senyawa yang terdapat dalam hasil fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) menggunakan LC-MS(*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) ?

1.3 Tujuan penelitian

- a. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.
- b. Mengetahui perbandingan konsentrasi fraksi ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) 15%, 20%, dan 25% yang memiliki zona hambat optimum antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ?
- c. Mengetahui jumlah komposisi senyawa yang terdapat dalam hasil fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) menggunakan LC-MS(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi peneliti

Peneliti dapat mengetahui dan mendapatkan data ilmiah tentang uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun jinten terhadap bakteri *Escherichia coli* dan komponen penyusun senyawa-senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak daun jinten.

1.4.2 Bagi instansi

Peneliti ini diharapkan bisa memberikan informasi ilmiah tentang hasil pengujian yang dilakukan terkait uji antibakteri terhadap fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*). Memberikan informasi ilmiah mengenai kandungan senyawa yang terdapat di dalam fraksi etil asetat daun jinten serta efektivitasnya sebagai antibakteri.

1.4.3 Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi ilmiah mengenai hasil fraksi etil asetat daun jinten sebagai antibakteri, sehingga masyarakat dapat mengetahui kegunaan atau manfaat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

2.1.1 Uraian Umum Tanaman Jinten

Tanaman jinten ini ditemukan di India, Ceylon, Afrika Selatan dan mempunyai ciri dengan daun tebal, lebih tegak, bentuk daunnya bulat telur, tepi daun bergerigi dan aroma tertentu yang kuat dan khas, memiliki bunga yang berbentuk tajam dan mengandung minyak atsiri didalamnya (Yuniarachma, 2019). Tanaman torbangun atau juga disebut dengan daun jinten ini hampir dapat dijumpai diseluruh wilayah di Indonesia, banyak masyarakat yang memanfaatkannya sebagai obat yang digunakan yaitu bagian daunnya. Di dalam tanaman daun jinten terdapat senyawa-senyawa yang dapat digunakan sebagai obat seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid, tanin, polifenol, kuinon, minyak atsiri (Hamizah, 2013). Tanaman jinten dengan nama lain (*Plectranthus amboinicus*) salah satu spesies famili Lamiaceae, dan dikenal oleh masyarakat luas yakni daun jinten (Silalahi, 2018).

2.1.2 Deskripsi Tanaman Jinten

Menurut (Hatupea, 1994), terdapat klasifikasi dari tanaman daun jinten :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Asteridae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : *Plectranthus*
Spesies : *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.



Gambar 2.1 tanaman daun jinten (*Plectranthus amboinicus*)
(dokumentasi pribadi)

2.1.3 Kandungan Senyawa Tanaman Jinten

Daun jinten mengandung senyawa metabolit sekunder dan kandungan senyawa yang ada dalam daun jinten dimanfaatkan sebagai pengobatan herbal. Banyak sekali kandungan senyawa yang ada di dalam daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) antara lain alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid, tanin, polifenol, kuinon, minyak atsiri dengan aktivitas senyawa tersebut tanaman jinten sebagai pengobatan tradisional (Hamizah, 2013).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian secara umum yaitu proses pemisahan suatu zat aktif dari padatan ataupun cair kemudian dibantu menggunakan pelarut. Dalam proses suatu ekstraksi terdapat beberapa faktor yang menentukan nilai dari koefisien massa. Nilai koefisien massa mempunyai tujuan sebagai penentu kecepatan difusi dari suatu zat yang terlarut kedalam pelarut. Nilai koefisien massa sendiri terdiri atas ukuran partikel, kecepatan pengadukan, sifat fisis padatan dan suhu (Ayndri, 2015).

Maserasi adalah suatu metode ekstraksi dengan proses perendaman ekstrak dengan menggunakan pelarut yang sesuai, selanjutnya akan diambil senyawa aktif yang terdapat di ekstrak tanpa melalui proses pemanasan (Suharto, 2016). Metode maserasi yaitu suatu metode ekstraksi yang umum dilakukan, caranya dengan memasukkan simplisia yang sudah dihaluskan dan pelarut yang sesuai dalam satu wadah dan terakhir di tutup rapat dan disimpan pada suhu kamar

(Tetti, 2014). Pada proses perendaman sampel ekstrak, dinding sel dan membran didalam ekstrak terjadi pemecahan yang diakibatkan luar sel dengan bagian dalam sel terdapat perbedaan tekanan. Akhirnya metabolit sekunder yang ada didalam sitoplasma tersebut pecah dan terangkat oleh pelarut organik (Novitasari dan Putri, 2016).

Terdapat suatu kekurangan didalam metode maserasi ini, diantaranya adalah waktu yang lama, menggunakan banyak pelarut, ada besar kemungkinan terdapat beberapa senyawa yang hilang (Tetti, 2014).

2.3 Fraksi

Fraksi merupakan metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda dengan susunannya. Fraksi dengan proses ekstraksi cair-cair dilakukan dengan cara pengocokan. Prinsip dari pemisahan ini yaitu didasarkan pada perbedaan tingkatan kepolaran dari suatu larutan dan bobot jenis antara dua fraksi (Pratiwi et al., 2016).

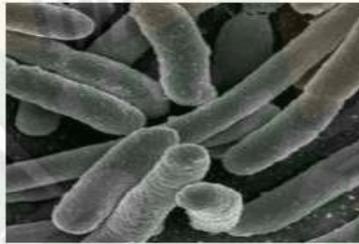
Pelarut etil asetat yaitu pelarut yang bersifat semipolar. Etil asetat ini bekerja selektif dengan menarik senyawa yang ada didalamnya yang bersifat semipolar. Senyawa tersebut seperti terpenoid dan fenol (Tiwari et al., 2011). Pelarut etanol memiliki titik didih yang rendah dan cenderung aman. Pelarut etanol memiliki kepolaran yang tinggi oleh karena itu, mudah dalam melarutkan resin, karbohidrat, lemak, minyak dan senyawa yang lainnya. Pada pelarut n-heksana yang merupakan pelarut non-polar memiliki sifat yang stabil dan mudah menguap, selektif dalam melarutkan dan mengekstrak suatu pewangi dalam jumlah yang besar (Munawaroh et al., 2010).

2.4 Bakteri *Escherichia coli*

2.4.1 Klasifikasi Dan Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli* menurut (Jawetz et al., 2013) :

1. Kingdom : Prokaryotae
2. Division : Gracilicutes
3. Class : Scotobacteria
4. Ordo : Eubacteriales
5. Family : Enterobacteriaceae
6. Genus : *Escherichia*
7. Species : *coli*



Gambar 2.2 bakteri *Escherichia coli* (Wibowo, 2016)

Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri yang memiliki ciri-ciri dengan bentuk batang pendek, bersifat anerob fakultatif, tidak berspora, bakteri *Escherichia coli* ini banyak disekitar lingkungan kehidupan, dan bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri Gram negatif (Gomes et al., 2011).

Bakteri *Escherichia coli*, bakteri ini tidak tahan terhadap asam, bergerak (motil) dengan flagel peritrikus (merata tersebar ke seluruh permukaan sel) sebagian besarnya, tetapi juga ada nonmotil, strain memiliki kapsul. Bakteri *Escherichia coli* sangat tidak sensitif terhadap panas. Nilai PH umumnya untuk pertumbuhan yaitu 7,0-7,5, untuk suhu pertumbuhannya yaitu 10-40°C dengan suhu optimum 37°C (Maradona, 2013).

2.5 Uji Metode Antibakteri

2.5.1 Metode Difusi *Disc Diffusion*

Metode *Disc Diffusion* (test Kirby & Bauer) adalah suatu metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Cakram yang berisi agen

antibakteri diletakkan di media agar yang sudah ditanami mikroorganisme akan berdifusi dalam media agar tersebut. Area yang memiliki hasil jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme (Pratiwi, 2008).

2.5.2 Metode Dilusi Cair

Broth dilution test/metode dilusi cair yaitu suatu metode untuk mengukur MBC dan MIC. Caranya dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan agen antibakteri yang digunakan pada kadar terkecil, terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji yang ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan untuk KHM selanjutnya dikultur kembali pada media cair namun tidak ditambahkan agen antibakteri ataupun mikroba uji, proses selanjutnya diinkubasi 18-24 jam. Media yang sudah diinkubasi jika menunjukkan hasil jernih, ditetapkan sebagai KHM (Pratiwi, 2008).

2.6 LC-MS(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)

2.6.1 Deskripsi LC-MS(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)

LC-MS(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) merupakan sebuah teknik analisis yang menggabungkan dari kemampuan fisik dari kromatografi cair dengan spesifisitas deteksi spektrofotometri massa. Data dari sebuah LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) digunakan untuk memberikan informasi seperti struktur, berat molekul kuantitas dan identitas komponen dari sampel tertentu, dan senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel isebut fase diam, elusi pelarut melalui kolom disebut fase gerak (Himawan, 2010).

Prinsip dari LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) yaitu pemisahan analit-analit berdasarkan kepolaran, alat terdiri dari kolom untuk fase diam, larutan tertentu untuk fase gerak. Campuran analit nanti terpisah sesuai dengan kepolaran dan kecepatan untuk sampai di detektor atau waktu retensinya akan berbeda, dan teramati di spektrum puncak-puncak terpisah (Himawan, 2010).

Fase gerak cair diberi bantuan pompa yang dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan dengan cara penyuntikan ke aliran fase gerak.

Dalam kolom tersebut terjadi pemisahan komponen campuran dikarenakan terdapat perbedaan kekuatan interaksi dari fase diam dengan larutan. Larutan dengan dengan fase diam dengan interaksi kurang kuat itu keluar terlebih dahulu dari kolom. Larutan yang berinteraksi dengan fase diam itu keluar kolom, lalu dideteksi oleh detektor, direkam bentuknya yaitu kromatogram (Isnawati, 2013). Keuntungan dari LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) ini adalah dapat menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti polaritas tinggi, senyawa termal labil, bermassa molekul tinggi, protein (Himawan, 2010).

2.7 Hipotesis

1. Fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin yang memiliki aktivitas antibakteri.
 - Ho : fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki aktivitas antibakteri.
 - Ha : fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) tidak memiliki aktivitas antibakteri.
2. Fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki konsentrasi optimum terhadap bakteri *Escherichia coli*.
 - Ho : memiliki konsentrasi optimum.
 - Ha : tidak memiliki konsentrasi konsentrasi optimum.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan meliputi corong pisah, LC-MS(*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) merk Shimadzu, erlenmeyer (pyrex), seperangkat alat maserasi, batang pengaduk, gelas beaker (pyrex), ayakan mesh 80, kertas saring, corong pisah (pyrex), blender, neraca analitik, ose, tabung reaksi (pyrex), plate, gelas ukur (pyrex), bunsen, micropipet, cawan petri, autoclave.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan meliputi 1 kg daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang segar sebagai simplisia, aquadestilata, etanol 70%, n-heksana, etil asetat, *Nutrient Both*(NB), *Nutrient Agar*(NA), bakteri *Escherichia coli*, DMSO (*Dymethyl sulfoxide*), FeCl, HCl.

3.2 Populasi Penelitian

Populasi untuk penelitian ini yaitu daun jinten di Desa Wates, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun jinten segar Desa Wates, di Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang telah ditetapkan oleh peneliti sebagai suatu hal yang dapat digunakan bertujuan untuk dipelajari dalam bentuk apapun dan sehingga diperoleh informasi yang nantinya untuk diambil kesimpulan (Sugiyono, 2013). Pada penelitian ini menggunakan variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas yaitu variabel yang dapat suatu penyebab ataupun mempengaruhi perubahannya (Sugiyono, 2013). Pada penelitian ini yang digunakan yaitu adalah ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dan pelarut fraksi yang sudah ditentukan kemudian dilakukan uji menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*).

3.4.2 Variabel kontrol

Variabel kontrol yaitu suatu variabel yang dapat dikendalikan hingga nanti mendapatkan hasil yang tepat, tidak berubah. Pada penelitian ini variabel kontrolnya adalah metode maserasi, yaitu waktu dan banyaknya pelarut.

3.4.3 Variabel terikat

Variabel terikat yaitu suatu variabel menjadi suatu akibat yang dipengaruhi variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat dari fraksi ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman Jinten

Sampel yang digunakan adalah daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) di determinasi di UPT Materia Medica Batu Malang, Jawa Timur. Determinasi tanaman merupakan pemberian nama latin, suku atau familia suatu organisme yang menggunakan literatur dan dipersamakan atau dipastikan kebenarannya (Ratnawati, 2011).

3.5.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dari daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) langkah awal dengan pencucian hingga bersih, kemudian proses pemotongan dengan ketebalan yang sama. Proses pengeringan daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan cara di angin-anginkan tidak dibawah sinar matahari secara langsung. Simplisia kering di lakukan sortasi kering untuk menghilangkan kotoran dan bahan asing. Langkah selanjutnya menghaluskan simplisia dijadikan serbuk yang halus,

kemudian serbuk diayak menggunakan *mesh* dengan ukuran 80 (Shahdadi et al., 2015).

3.5.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

3.5.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Uji susut dalam pengeringan simplisia adalah salah satu parameter non spesifik yang memiliki tujuan yaitu memberikan batasan rentang(maksimal) tentang besarnya senyawa yang hilang dalam proses pengeringan (Depkes RI, 2000). Rumus susut pengeringan menurut (Depkes RI, 2000) :

$$\text{susut pengeringan \%} = \frac{\text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

Keterangan :

A: berat awal serbuk(g)

B: berat akhir serbuk(g)

3.5.3.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air simplisia dengan tahan awal penimbangan. Pengeringan yang dilakukan selanjutnya dengan suhu 105°C dengan menggunakan oven hingga beratnya konstan. Hasil akhir di timbang dan dicatat hasil yang diperoleh (Depkes RI, 2000).

Menurut (Depkes RI, 2000) terdapat rumus perhitungan untuk uji kadar air sebagai berikut :

$$\text{kadar air \%} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

Keterangan :

A = bobot awal.

B = bobot akhir.

3.5.4 Pembuatan Ekstrak Jinten (*Plectranthus amboinicus*)

Proses pembuatan ekstrak daun jinten yaitu dengan metode maserasi. Serbuk daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) 500 gram kedalam botol maserasi dengan ditambahkan etanol 70% sebanyak 1000 mL bersamaan dengan proses pengadukan beberapa kali. Hasil maserat yang diperoleh disaring dengan kain flanel dengan cara pengulangan hingga larutannya jernih. Tujuan dari pengulangan tersebut supaya senyawa tersari seluruhnya. Berikutnya dengan proses pemekatan ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) menggunakan evaporator hingga akhirnya diperoleh ekstrak pekat atau disebut rendemen. Ekstrak pekat tersebut ditimbang dan disimpan dilemari pendingin (Simbolon and Yelmir M., 2018).

3.5.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

3.5.5.1 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol bertujuan untuk memperoleh ekstrak murni tanpa kontaminasi, membebaskan suatu ekstrak dari etanol. Etanol bersifat antifungi dan antibakteri sehingga tidak akan menimbulkan hasil positif palsu diperlakukan sampel (Kurniawati E., 2015).

Uji bebas etanol ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan menggunakan larutan asam sulfat dan asam asetat masing-masing 1 mL. Larutan tersebut ditambahkan pada ekstrak daun jinten, lalu di panaskan. Ekstrak yang bebas dari etanol tidak tercium bau khas pelarut dari ester (Kurniawati E., 2015).

3.5.5.2 Rendemen

Rendemen adalah perbandingan berat produk yang sudah kering dengan berat bahan bakunya. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan berat dari ekstrak yang dihasilkan yang sudah dikeringkan dengan berat awal (berat biomassa sel) dikali 100% (Sani et al., 2014). Rumus rendaman ekstrak menurut (Sani et al., 2014) :

$$\%rendemen = \frac{\text{jumlah berat ekstrak(g)}}{\text{jumlh berat kering/simplisia(g)}} \times 100\%$$

3.5.6 Skrining Fitokimia

3.5.6.1 Senyawa Alkaloid

Senyawa alkaolid dengan menggunakan reagen Dragendroff dan Mayer. Uji Dragendroff yaitu ekstrak ditambahkan 1 mL reagen Dragendroff, sedangkan dalam uji Mayer ekstrak 1 mL ditambahkan HCl 2 N dan ditambahkan reagen Mayer. Hasil dari Mayer ditandai terbentuknya endapan putih pada ekstrak, Dragendroff warna endapannya adalah jingga (Wardhani et al., 2018).

3.5.6.2 Senyawa Flavonoid

Sampel diambil etanol 70% sebanyak 2 mL, kemudian diaduk dan dipanaskan, lalu disaring. Hasil saringan tersebut ditambahkan Mg dan HCl pekat. Jika hasil positif ditandai dengan endapan warna orange atau merah (Harborne, 1987).

3.5.6.3 Senyawa Saponin

Senyawa saponin di uji dengan busa dalam air panas dan dikocok kuat. Penambahan 1 tetes HCl 2 N dan hasil busa yang stabil dalam waktu 5 menit tidak akan hilang dan terus terlihat menandakan adanya saponin (Wardhani et al., 2018).

3.5.6.4 Senyawa Tanin

Senyawa tanin dalam daun jinten diidentifikasi dengan cara ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) diencerkan dengan 3 mL aquadest panas diaduk hingga homogen. Jika sudah dingin ditambahkan larutan natrium klorida konsentrasi 10% sebanyak 5 tetes. Dua tabung yang digunakan, satu untuk blanko dan satu tabung filtrat untuk ditambahkan pereaksi FeCl sebanyak 3 tetes, sisa bagian filtrat ditambah gelatin. Tanda jika terdapat senyawa tanin dalam ekstrak yaitu dengan perubahan warna biru kehitaman atau coklat kehijauan (Ukoha et al., 2011).

3.5.7 Fraksinasi

Maserat ditimbang sebanyak 5 gram dilarutkan sebanyak 25 mL Aquadestilata, dan ditambahkan n-heksan sebanyak 25 mL, lalu larutan tersebut di gojok dan dipisahkan kedua fraksi tersebut. Aquades yang sudah tersari dimasukkan dalam corong pisah 100 mL, ditambahkan dengan etil asetat sebanyak

25 mL. Larutan tersebut digojok dan dipisahkan kedua fraksi tersebut. Penyarian dilakukan 3 kali perlakuan sama pada beberapa larutan fraksi. Filtrat hasil saringan diuapkan menggunakan evaporator rotary (Harborne, 2006).

3.5.8 Pembuatan Media

3.5.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dengan waktu yang dibutuhkan 10-15 menit. Alat-alat dan bahan dari gelas ataupun kaca dibungkus menggunakan kertas, seperangkat gelas di tutup menggunakan kapas, aluminium foil (Andriani et al., 2016).

3.5.8.2 Nutrient Agar(NA)

Dasar pembuatan *Nutrient Agar*(NA) sebanyak 4 gram dilarutkan dengan aquadest 200 mL dalam erlenmeyer. Larutan tersebut diaduk dan dihomogenkan dengan *stirer* bersamaan dengan dipanaskan, apabila sudah homogen disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Media *Nutrient Agar*(NA) dituangkan kedalam cawan petri Proses selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Bakteri yang digunakan yaitu *Escherichia coli* (Dima et al., 2016).

3.5.8.3 Nutrient Broth(NB)

Nutrien Broth sebanyak 0,3 gram dilarutkan dengan aquades sebanyak 30 ml, apabila sudah homogen, larutan media tersebut dituang kedalam tabung reaksi masing-masing 6 mL. Media tersebut disterilisasi pada suhu 121 °C selama ± 60 menit dengan menggunakan autoklaf (Kabense et al., 2019).

3.5.9 Pembuatan Larutan Uji

3.5.9.1 Pembuatan Larutan Uji Fraksi Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*)

Pembuatan larutan uji fraksi dari ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yaitu dibuat konsentrasi 15%, 20%, 25% dilarutkan dengan menggunakan DMSO 5% pada masing-masing volume 10 mL. Larutan uji fraksi aquades konsentrasi 15%, 20%, 25% ,dengan menimbang fraksi 1,5 gram , 2 gram,

2,5 gram, yang dilarutkan dengan DMSO sebanyak 10 mL. Perlakuan sama pada fraksi n-heksan dan etil asetat.

3.5.9.2 Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Kontrol positif menggunakan obat Chlormfenicol 500 mg. Satu tablet Chlormfenicol ini digerus hingga halus, proses selanjutnya serbuk yang digerus ditimbang dan disetarakan 50 mg. Chlormfenicol yang sudah menjadi serbuk dilarutkan dengan DMSO 5% 50 ml di labu ukur untuk mendapatkan larutan Chlormfenicol 50 µg/50 µl (Nurhamidin et al., 2021).

3.5.9.3 Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan yaitu adalah DMSO 5%. Pembuatan DMSO 5% caranya dengan melarutkan sebanyak 5 ml dan ditambahkan aquadestilata hingga tanda batas 100 mL. DMSO yang nilai konsentrasinya di atas 5% memiliki aktivitas antibakteri, dan dikatakan tidak efektif pada konsentrasi 2%. Kontrol negatif DMSO ini untuk membuktikan pelarut tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap larutan uji tersebut (Suryaku, 2017).

3.5.10 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri yang dibiakkan dalam media *nutrient agar*(NA) selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pembuatan suspensi bakteri uji, caranya pengambilan bakteri biakan lalu dilarutkan dalam larutan saalin 0,9% NaCl. Tingkat dalam kekeruhan suspensi dibandingkan dengan standard 0,5 McFarland secara visual. Suspensi tersebut dipipet 100 µl lalu ditambahkan media dilusi *nutrient broth* 10 ml hingga akhirnya diperoleh suspensi mikroba yang mempunyai koloni sebanyak 1-2 x 10⁶ CFU/mL (Wiegend et al., 2008). Suspensi bakteri ini digunakan tidak lebih dari 30 menit setelah pembuatan, suspensi bakteri ini selanjutnya untuk uji aktivitas (Andrews., 2006).

3.5.11 Uji Aktivitas Antibakteri

3.5.11.1 Metode Difusi Cakram

Metode cakram yang digunakan yaitu *Kirby-Baruer* merupakan metode difusi dengan menggunakan cakram kertas. Cakram kertas yang digunakan kertas

cakram saring (*paper disc*) yang mempunyai fungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Media *Nutrient agar*(NA) dituangkan kedalam cawan petri/plate 10 mL, kemudian Plate yang berisi media yang sudah padat diberi biakan bakteri menggunakan cotton bud steril dengan merata, dan media didiamkan agar memadat, bakteri biakan *Escherichia coli* diambil menggunakan pipet dari media larutan *Nutrient Broth*(NB) kedalam plate yang sudah disterilkan sebelumnya sebanyak 200 µl. Cakram kertas yang rendam n-heksan pada ekstrak daun jinten dengan larutan DMSO, dipindahkan ke media *Nutrient agar* (NA) yang berisi *Escherichia coli* secara aseptis, dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1 x 24 jam (Nurhamidin et al., 2021).

3.5.12 Pengukuran Zona Hambat

Dilakukan pengamatan dengan mengukur zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong. Hal tersebutlah yang disebut zona hambat (Susanto et al., 2012).

3.5.12.1 Klasifikasi Zona Hambat

Menurut (Susanto et al., 2012)

| Diameter | Kekuatan zona hambat |
|----------|----------------------|
| ≤ 5 mm | Lemah |
| 6-10 mm | Sedang |
| 11-20 mm | Kuat |
| ≥ 21 mm | Sangat kuat |

Tabel.1 klasifikasi zona hambat bakteri

3.5.13 Uji Senyawa Hasil Fraksi Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*).

Identifikasi komponen-komponen penyusun hasil fraksinasi ekstrak daun jinten dilakukan menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) yang dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang.

3.5.14 Analisis Statistika

Data yang dihasilkan dari uji aktivitas fraksinasi ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan dianalisa dengan program *Statistical Product Services Solution* (SPSS 23). Berikut adalah pengolahan datanya :

3.5.14.1 Uji normalitas data

Uji ini sebagai pengukur apakah data mempunyai distribusi normal yang dapat digunakan sebagai statistik parametrik. Uji yang digunakan *Shapiro-Wilk* untuk uji normalitasnya, apabila $p > 0,05$ maka diperoleh hasil normal..

Berikut adalah perumusan hipotesis :

3.5.14.2 Uji homogenitas

Uji ini untuk uji kesamaan (*homgenitas*) dari sampel, dengan mengetahui variasi sampel yang diambil dari populasi sama itu seragam atau tidak. Uji yang digunakan *levene statistic* (Ghazali, 2011), jika $p > 0,05$ maka diperoleh hasil homogen.

3.5.14.3 Uji *one way anova*

Uji ini bertujuan untuk membedakan rata-rata dari sampel uji. Penelitian yang dilakukan guna untuk membuktikan dalam perlakuan ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan variasi konsentrasi fraksi berbeda terhadap pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli*.

Perumusan hipotesis :

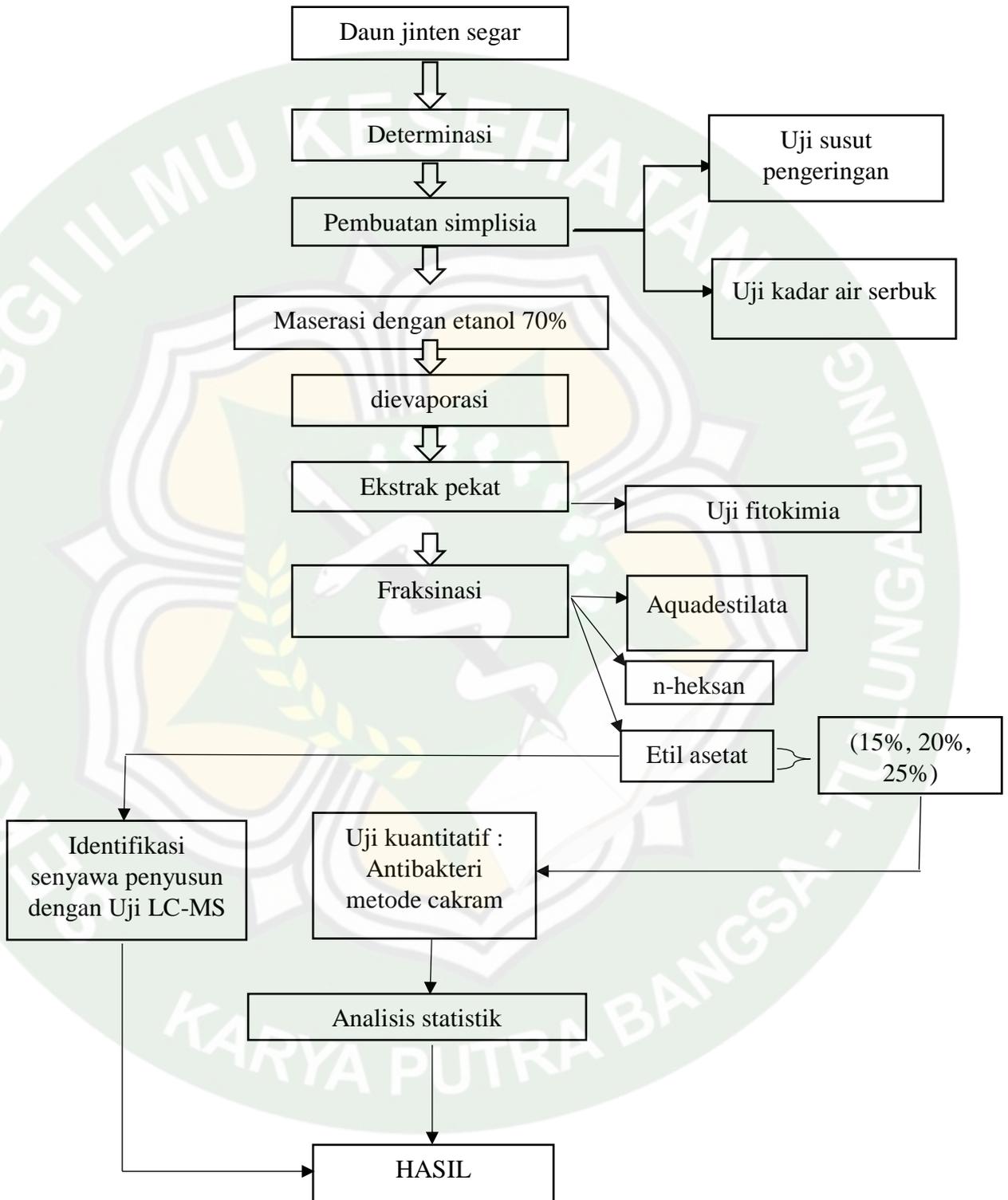
- H_0 : ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun jinten terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
- H_1 : tidak ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Pengambilan keputusan :

- jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima.
- jika $p < 0,05$ H_1 tidak diterima.



3.6 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian

3.7 Jadwal Penelitian

Jadwal penelitian disini bertujuan sebagai mengatur dan juga pengingat tahapan penelitian, dapat dilihat pada lampiran 5.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di kampus STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung, di bagian Laboratorium Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi, serta di Universitas Muhammadiyah Malang bagian ruang Instrumental LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*). Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri, mengukur diameter zona hambat pada daun jinten (*Plectranthus amboinicus*), dengan tahapan seperti pembuatan ekstrak daun jinten, maserasi, fraksi, uji antibakteri, dan LC-MS. Hasil yang didapat pada penelitian sebagai berikut :

4.1 Determinasi Tanaman

Penelitian ini dilakukan Determinasi di Materia Medica Batu-Malang. Tujuan determinasi adalah untuk memastikan dan untuk mengidentifikasi jenis tanaman yang digunakan. Penelitian ini menggunakan tanaman berupa daun jinten(*Plectranthus Amboinicus*). Berikut adalah hasil determinasi yang sudah dilakukan :

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 determinasi yang dilakukan dapat dipastikan tersebut merupakan tanaman jinten. Surat pengesahan dari hasil determinasi dilampikan pada lampiran 1.

4.2 Pembuatan Simplisia

Penelitian kali ini dalam pembuatan simplisia dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan memilih daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang segar yang langsung dipetik, dengan ciri-ciri daun hijau segar tidak layu, tidak di gerogoti oleh serangga, yang bentuk daunnya bagus. Jinten segar dilakukan sortasi, jenis sortasi ada dua yaitu sortasi basah dan sortasi kering. Tujuan dilakukan sortasi basah adalah untuk memisahkan kotoran-kotran atau benda asing lain yang tidak perlu kemudian dibuang sebelum pengeringan dilakukan, dan diperoleh simplisia dengan mutu yang baik. Sortasi kering tujuannya, membersihkan benda-benda asing yang ada di simplisia kering dan bagian tanaman yang tidak digunakan (Depkes RI, 1985).

Langkah selanjutnya daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dipotong-potong, yang proses pemotongannya dengan ukuran yang sama. Tujuan dari proses pemotongan yaitu memudahkan dalam proses pengeringan, pemotongan tersebut dilakukan dengan alat pisau (Depkes RI, 1985). Penggunaan dari pengeringan dengan diangin-anginkan tujuannya menghindari kerusakan kandungan kimia yang ada didalam daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) apabila terpapar sinar matahari secara langsung, apabila dengan oven penggunaan suhu yang telampau tinggi bisa mempengaruhi kualitasnya, selain itu juga diangin-anginkan lebih murah (Winangsih, 2013).

Simplisia daun jinten dihaluskan menggunakan blender hingga halus, selanjutnya dilakukan pengayakan dengan ukuran mesh 80. Tujuan dari pengayakan yang dilakukan untuk menyamakan ukuran dari simplisia dan apabila semakin kecil ukuran serbuk yang diperoleh maka semakin luas atau besar kontak sebuah partikel dengan pelarut (Sembiring et al., 2008). Ukuran serbuk simplisia daun jinten, kehalusan bahan dan lama proses ekstraksi dengan cara maserasi yang dilakukan akan lecih cepat (Wuryantoro et al., 2014).

4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.3.1 Uji Susut Pengerinan Simplisia

Tabel 4.1 Uji susut pengerinan dari daun jinten

| Sampel | Bobot awal | Bobot akhir | % Hasil |
|-------------|------------|-------------|---------|
| Daun jinten | 20kg | 1kg | 5% |

Berdasarkan tabel 4.1, uji susut pengerinan dilakukan. Kesimpulannya adalah kandungan air yang ada di dalam daun jinten cukup banyak dengan hasil sebesar 5%. Tujuan dilakukan uji susut pengerinan simplisia yaitu salah satu syarat dari standarisasi tanaman yang digunakan sebagai obat yang memberikan batas rentang atau batas maksimal dari jumlah besarnya senyawa yang hilang yang ada didalam daun jinten pada proses pengerinan. Menurut farmakope herbal batas maksimum dalam susut pengerinan tidak lebih dari 11% (Depkes RI, 2000).

4.3.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Tabel 4.2 Hasil uji kadar air dari serbuk simplisia daun jinten

| Sampel | Bobot awal | Bobot akhir | % Hasil |
|-------------|------------|-------------|---------|
| Daun jinten | 12g | 11g | 8,33% |

Uji kadar air yang dilakukan sebagai salah satu parameter dalam melihat kualitas dari simplisia daun jinten tersebut. Proses penentuan kadar air pada simplisia mempunyai tujuan yakni dalam simplisia dengan kandungan air yang ditetapkan untuk memberikan sebuah batas rentang. Apabila kandungan air yang cukup besar memudahkan mikroorganisme tumbuh dan mudah timbulnya pertumbuhan jamur. Kadar air yang sesuai dapat meminimalisir pertumbuhan jamur, yakni tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2000).

4.4 Pembuatan Ekstrak Jinten

Pembuatan ekstrak daun jinten dibuat dengan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi dengan merendam serbuk simplisia dalam wadah botol kaca, serbuk simplisia sebanyak 1kg dan pelarut etanol 70% sebanyak 10L. Dalam 1 botol kaca berisi 1g serbuk simplisia dan pelarut etanol 70% sebanyak 1L. Etanol adalah satu pelarut yang dapat melarutkan senyawa non polar sampai pelarut polar. Tujuan penggunaan etanol 70% dalam proses maserasi yaitu etanol 70% lebih polar, mampu menarik senyawa lebih banyak pada simplisia daun jinten, aman dan sifatnya yang non toksik (Prayitno et al., 2016). Pilihan menggunakan metode maserasi karena cukup praktis, mudah dan pengerjaannya yang sederhana.

Proses maserasi ini dilakukan pengulangan perendaman residu atau bisa disebut dengan remaserasi dengan penambahan pelarut. Proses remaserasi bertujuan untuk penarikan senyawa yang masih tertinggal pada proses maserasi awal, sehingga perlakuan ini untuk memaksimalkan proses penarikan senyawa dalam daun jinten (Depkes RI, 2000). Hasil maserasi dan remaserasi tersebut kemudian dilakukan pemekatan menggunakan *evaporator rotary* sampai didapat ekstrak yang kental dan pekat. Prinsip dari penggunaan *evaporator rotary* sama persis dengan proses destilasi, yakni dengan pemisahan. *Evaporator rotary* ini bekerja menurunkan tekanan dari suatu sampel tersebut dan memutar rotary atau sampel diimbaangi dengan kecepatan yang telah ditentukan secara konstan yang memiliki fungsi sebagai mempercepat suatu pemisahan. *Evaporator rotary* prosesnya tidak pemanasan secara langsung, ia menurunkan tekanan dibawah titik didih pada alat yakni labu alas bulat, dari situ proses pemisahan terjadi. Tujuan dari *evaporator* tersebut berguna untuk pemisahan sebuah pelarut dalam proses pemekatan dengan suhu yang telah ditentukan dan hasil yang diperoleh ekstrak dengan konsentrasi ataupun kandungannya lebih pekat.

4.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

4.5.1 Uji Bebas Etanol

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 pelarut dari ester |

**Gambar 4.1** : Dokumentasi uji bebas etanol

Uji bebas etanol terhadap ekstrak daun jinten dilakukan dengan menggunakan larutan asam asetat dan asam sulfat. Tujuan uji bebas etanol terhadap ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) untuk membebaskan ekstrak daun jinten dari etanol karena etanol mempunyai sifat antifungi dan antibakteri, oleh karena itu uji ini dilakukan dan diperoleh ekstrak murni dan tidak terdapat kontaminasi oleh etanol (Kurniawati, E, 2015). Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dapat dilihat pada tabel 4.3 yang menunjukkan hasil tidak berbau khas pelarut ester artinya tidak terdapat etanol didalamnya.

4.5.2 Uji Rendemen

Tabel 4.4 Hasil rendemen ekstrak

| Sampel | Bobot simplisia | Bobot ekstrak | % Hasil |
|-------------|-----------------|---------------|---------|
| Daun jinten | 1000g | 100g | 10% |

Rendemen yang dihasilkan nilainya kecil dipengaruhi beberapa hal seperti jenis pelarut, ukuran partikelnya, jumlah pelarut dan waktu ekstraksi (Saifudin and Rahayu, 2011). Rendemen dengan perhitungan perbandingan jumlah berat ekstrak dibagi dengan jumlah berat kering dari simplisia lalu dikalikan 100%. senyawa

kimia yang tersari dari ekstrak yang cukup besar ditunjukkan hasil rendemen yang tinggi. Hasil rendemen dalam penelitian ini mendapatkan hasil 10%.

4.6 Skrining Fitokimia

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 | Ada busa | + |
| Tanin | Ekstrak+aquadest+natrium klorida 10%+FeCl | Coklat kehijauan | + |



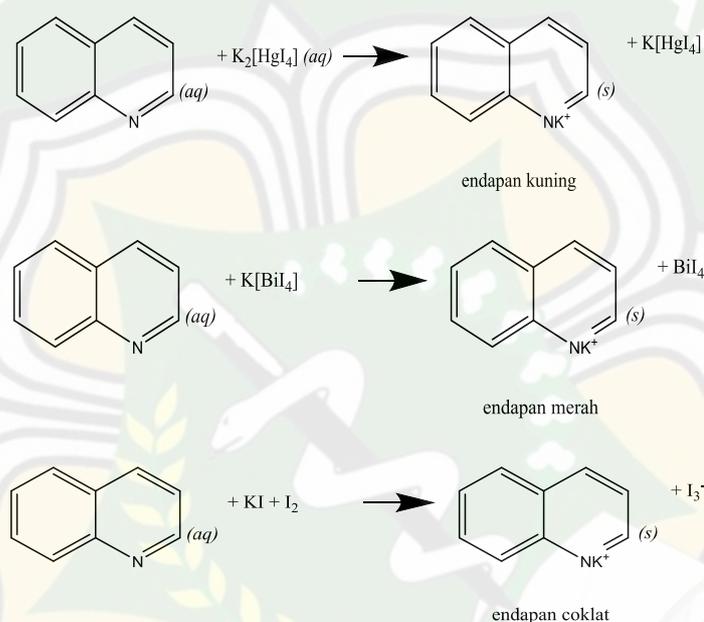
Gambar 4.2

Keterangan : (a.) Alkaloid, (b.) saponin, (c.) flavonoid, (d.) tanin.

Berikut adalah skrining fitokimia, metode ini dengan pengujian warna dan dengan pereaksi warna. Tujuan dari dilakukannya skrining fitokimia yakni untuk memberikan tentang sebuah gambaran golongan senyawa yang terkandung dalam daun jinten (*Plectranthus amboinicus*), (Widayanti et al., 2009).

4.6.1 Senyawa Alkaloid

Senyawa alkaloid dengan menggunakan reagen Dragendroff dan Mayer. Uji Dragendroff yaitu ekstrak ditambahkan 1 ml reagen Dragendroff, sedangkan dalam uji Mayer ekstrak 1 ml ditambahkan HCl 2 N dan ditambahkan reagen Mayer. Hasil dari Mayer ditandai terbentuknya endapan putih pada ekstrak, Dragendroff warna endapannya adalah jingga (Wardhani et al., 2018). Hasil penelitian yang diperoleh dengan reagen Dragendroff ditandai dengan endapan warna jingga.



Gambar 4.3. Reaksi dari senyawa alkaloid, (Nafsiah, et al., 2014)

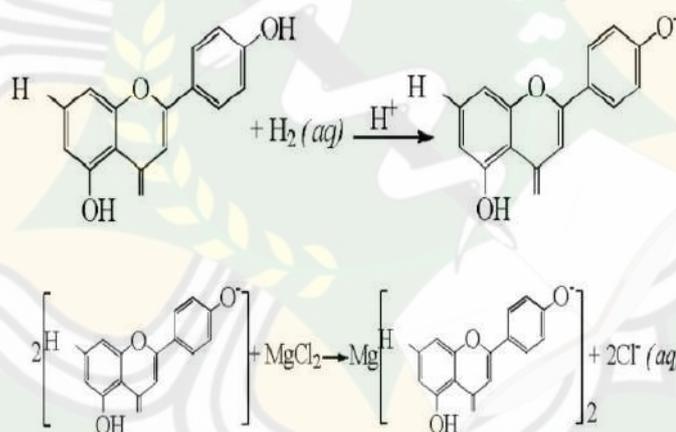
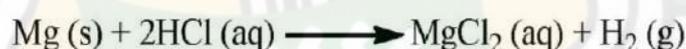
Endapan yang dihasilkan dari senyawa alkaloid dengan hasil positif endapan berwarna yang ditimbulkan dari masing-masing reagen itu berbeda. Endapan yang terbentuk pada hasil senyawa alkaloid berikatan koordinasi dari reagen yang digunakan dengan ion K^+ , dan terdapat perbedaan warna endapan karena terdapat logam dengan golongan transisi pada reagen yang digunakan, logam yang dimaksud bisa disebut dengan ligan.

4.6.2 Senyawa Flavonoid

Senyawa flavonoid dalam sampel daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) diidentifikasi, sampel ditambah etanol 70% sebanyak 2 ml, kemudian diaduk dan dipanaskan, lalu disaring. Hasil saringan tersebut ditambahkan Mg dan HCl pekat.

Jika hasil positif ditandai dengan endapan warna orange atau merah (Harborne, 1987).

Metabolit sekunder dari flavonoid bekerja sinergis yakni memberikan sebuah respon untuk menghambat, caranya dengan mengganggu keutuhan membran sel bakteri oleh adanya pembentukan senyawa kompleks dari protein ekstraseluler (Kumar and Pandey, 2013). Senyawa flavonoid yakni dengan senyawa tersebut direduksi oleh gas hidrogen. Gas tersebut hasil reaksi dari HCl dan Mg. Senyawa dari hasil reduksi kemudian membentuk senyawa kompleks, bersama Mg^{2+} dan menghasilkan warna orange atau merah. Hasil penelitian yang diperoleh ditandai dengan terdapat endapan warna orange.

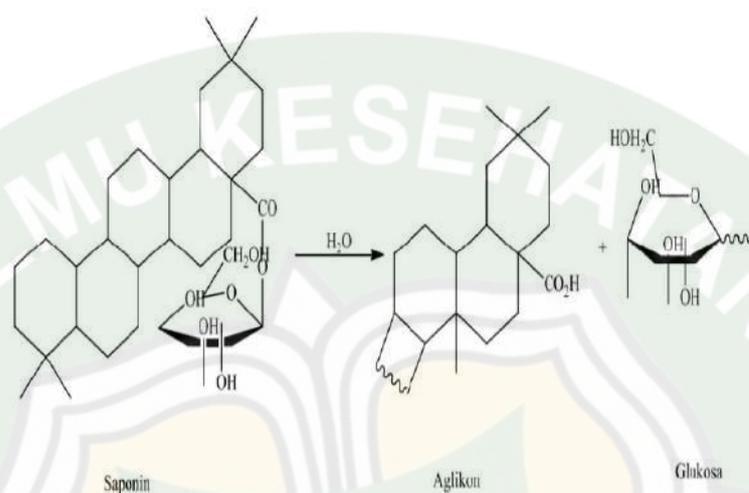


Gambar 4.4 reaksi senyawa flavonoid (andersen, et al., 2006).

4.6.3 Senyawa Saponin

Senyawa saponin di uji dengan busa dalam air panas dan dikocok kuat. Penambahan 1 tetes HCl 2 N dan hasil busa yang stabil dalam waktu 5 menit tidak akan hilang dan terus terlihat menandakan adanya saponin (Wardhani et al., 2018). Metabolit sekunder dari saponin sebagai antibakteri bekerja sinergis dari mekanisme penurunan tegangan dari dinding sel bakteri, setelah itu kebocoran

dari sel bakteri dari situ sel akan mati (Ngajow, et. al., 2013). Hasil penelitian yang diperoleh dengan ditandai busa yang stabil.

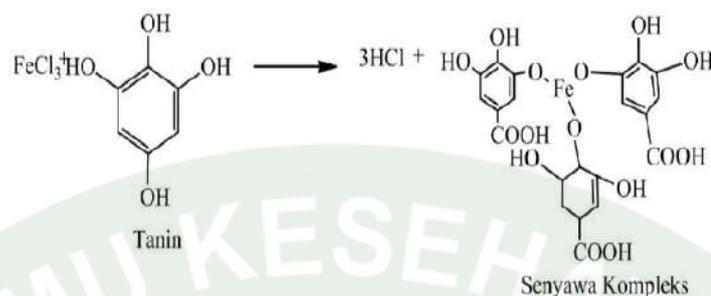


Gambar 4.5 reaksi senyawa saponin

Senyawa saponin dengan reaksi hidrolisis dari senyawa saponin tersebut menjadi aglikon dan glikonnya dan terbentuk busa yang stabil.

4.6.4 Senyawa Tanin

Senyawa tanin dalam daun jinten diidentifikasi dengan cara ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) diencerkan dengan 3 ml aquadestilata panas diaduk hingga homogen. Jika sudah dingin ditambahkan larutan natrium klorida konsentrasi 10% sebanyak 5 tetes. Dua tabung yang digunakan, satu untuk blanko dan satu tabung filtrat untuk ditambahkan pereaksi FeCl sebanyak 3 tetes, sisa bagian filtrat ditambah gelatin. Tanda jika terdapat senyawa tanin dalam ekstrak yaitu dengan perubahan warna biru kehitaman atau coklat kehijauan (Ukoha et al., 2011). Metabolit sekunder dari tanin bekerja sinergis sebagai antibakteri dengan kemampuan mempresipitasi protein, tanin ini memiliki sebuah efek sama dengan fenolik (Courtney, et.al., 2016). Hasil penelitian yang diperoleh yakni dengan ditunjukkan perubahan warna coklat kehijauan.



Gambar 4.6 reaksi senyawa dari tanin

Reaksi pada tanin, pada senyawa kompleks yang terbentuk karena ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam. Atom Fe sendiri yakni atom pusat dari senyawa kompleks yang menerima donor dari elektron, dan atom O dari atom donor kemudian timbul adanya elektron di atom Fe. Atom Fe merupakan suatu atom logam, atom O merupakan atom non logam. Fe ini dalam pembentukan elektron cenderung dapat mengikat 6 pasang elektron bebas. Dalam pembentukan senyawa kompleks, Ion Fe^{3+} terhibridisasi dan membentuk hibridisasi $d2sp^3$, dari situ terisi 6 pasang elektron bebas atom O. Terbentuknya warna coklat kehijauan terjadi karena tanin tersebut membentuk senyawa kompleks bersama ion Fe^{3+} (Mabruroh, 2015).

4.7 Faksinasi

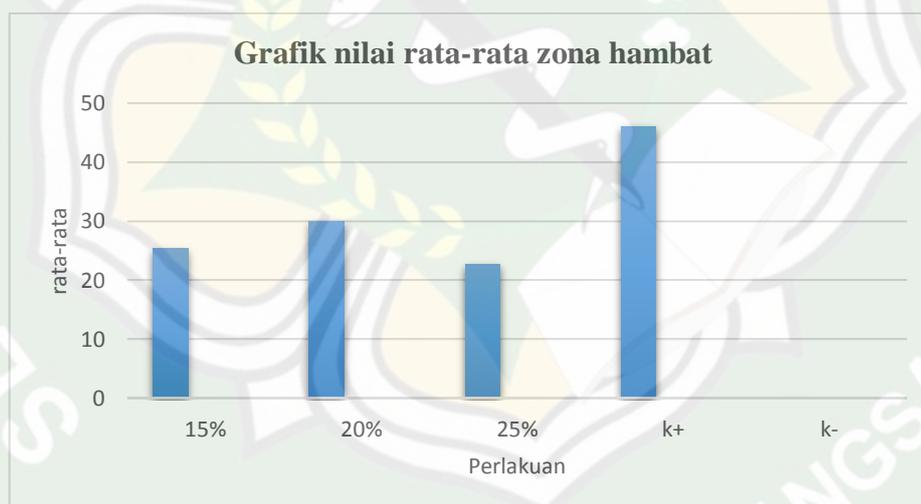
Maserat ditimbang sebanyak 5 gram dilarutkan sebanyak 25 ml Aquadest, dan ditambahkan n-heksan sebanyak 25 ml, lalu larutan tersebut di gojok dan dipisahkan kedua fraksi tersebut. Aquades yang sudah tersari dimasukkan dalam corong pisah ditambahkan dengan etil asetat sebanyak 25 ml. Larutan tersebut digojok dan dipisahkan kedua fraksi tersebut. Penyarian dilakukan 3 kali perlakuan sama pada beberapa larutan fraksi. Filtrat hasil saringan diuapkan menggunakan Waterbath (Harborne, 2006). Hasil fraksinasi terdapat dua lapisan, dan diambil adalah bagian atas, untuk larutan yang bawah difraksi kembali dengan urutan yang sama.

4.8 Aktivitas Antibakteri dan Pengukuran Zona Hambat

Penelitian berikutnya dengan uji aktivitas antibakteri, dengan menggunakan metode difusi cakram. Antibakteri merupakan bahan atau zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pada uji antibakteri akan muncul zona bening disekitar bakteri yang tumbuh dan dapat dikatakan senyawa aktif dapat bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri. Zona bening yang terbentuk diukur, dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Diameter zona hambat antibakteri fraksi etil asetat ekstrak daun jinten

| Perlakuan | Rep I | Rep II | Rep III | Rata-rata | keterangan |
|-----------|-------|--------|---------|-----------|-------------|
| 15% | 25mm | 20mm | 31mm | 25,33mm | Sangat kuat |
| 20% | 25mm | 45mm | 20mm | 30mm | Sangat kuat |
| 25% | 20mm | 23mm | 25mm | 22,67mm | Sangat kuat |
| K + | 45mm | 50mm | 43mm | 46mm | Sangat kuat |
| K - | 00mm | 00mm | 00mm | 00mm | - |



Gambar 4.10 Grafik rata-rata dari zona hambat uji antibakteri

Penelitian kali ini yang dilakukan dengan uji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*). Metode yang digunakan kali ini berupa metode Difusi cakram. Tujuan dari metode cakram ini adalah untuk mengetahui fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*)

mempunyai zona hambat seberapa besar yang dihasilkan dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*. Bakteri yang digunakan yaitu *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan tiga konsentrasi, kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan chloramphenicol, karena chloramphenicol antibiotik yang mempunyai spektrum luas. kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 5%, karena DMSO 5% merupakan pelarut DMSO 5% sebagai kontrol negatif karena pelarut DMSO 5% adalah pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa dari polar ataupun non polar. DMSO 5% ini sifatnya tidak bakterisidal, sehingga dapat dipastikan hasil aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) tanpa pengaruh pelarut dan bisa dikatakan murni (Assidqi, 2012).

Kategori dalam aktivitas antibakteri dikatakan sangat kuat dengan diameter zona hambat ≥ 21 mm, diameter zona hambat dikatakan kuat pada diameter 11-20mm, diameter zona hambat dikatakan sedang pada diameter 6-10mm, diameter zona hambat dikatakan lemah pada diameter ≤ 5 mm.

Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan, dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%. Tiga konsentrasi tersebut terbentuk zona bening diantaranya adalah, pada konsentrasi 15% dengan hasil 25mm, replikasi kedua 20mm, dan replikasi ketiga diperoleh hasil 31mm, diperoleh rata-rata 25,33mm. Konsentrasi 20% diperoleh zona hambat 25mm, replikasi kedua sebesar 45mm, dan replikasi ketiga diperoleh 20mm, diperoleh rata-rata 30mm. Fraksi etil asetat ekstrak daun jinten pada konsentrasi 25% diperoleh sebesar 20mm, replikasi kedua sebesar 23mm, ketiga dengan hasil 25mm, diperoleh rata-rata 22,67mm. Pada antibiotik chloramfenichol sebagai kontrol positif diperoleh pada replikasi pertama sebesar 45mm, replikasi kedua dengan hasil 50mm, replikasi ketiga dengan hasil 43mm dan hasil rata-rata diperoleh 46mm, dan untuk kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat yaitu 00mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Mengukur zona hambat pada plate yang berisi media agar dan kertas cakram yang sudah diberi larutan fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) sesuai

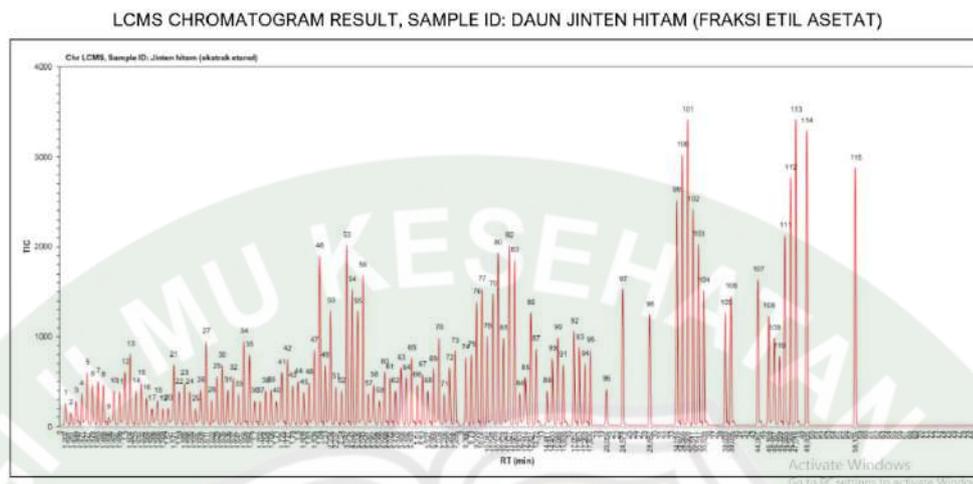
dengan masing-masing konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif. Daya hambat bakteri dari fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) diujikan pada pertumbuhan bakteri *Echerischia coli*. Pada uji aktivitas antibakteri dipengaruhi terdapat beberapa faktor yaitu seperti kandungan senyawa antibakteri, jumlah maupun jenis bakteri yang dihambat, kemudian konsentrasi dari ekstrak daun jinten (Jawetz et al., 2008).

4.9 Identifikasi LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)

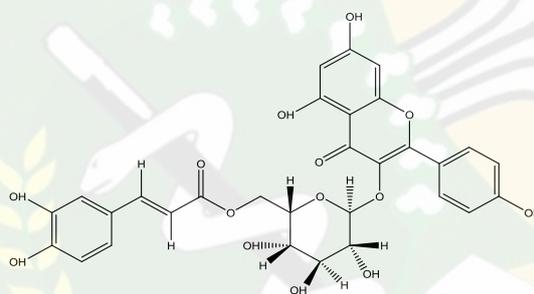
Prinsip dari LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) yaitu pemisahan analit-analit berdasarkan kepolaran, alat terdiri dari kolom untuk fase diam, larutan tertentu untuk fase gerak. Campuran analit nanti terpisah sesuai dengan kepolaran dan kecepatan untuk sampai di detektor atau waktu retensinya akan berbeda, dan teramati di spektrum puncak-puncak terpisah (Himawan, 2010).

Identifikasi LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang. Tujuan dilakukan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) untuk analisa senyawa organik, anorganik dan biologi dalam suatu sampel kompleks yang umum ditemukan dari asal lingkungannya. Gambar 4.7 merupakan *chromatogram* dari hasil fraksi etil asetat daun jinten yang di uji LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*). Dari *chromatogram* tersebut dapat dilihat puncak-puncak dari rendah hingga puncak tertinggi, dengan jumlah 115 senyawa yang ditemukan dalam ekstrak daun jinten.

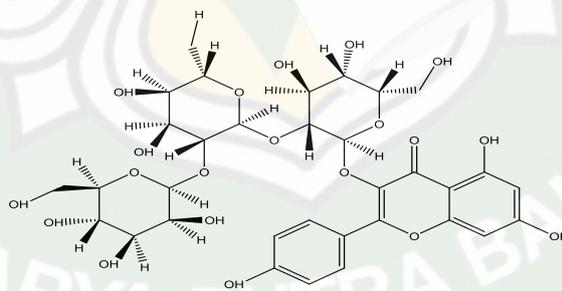
Hasil *chromatogram* LC-MS tersebut diketahui terdapat puncak tertinggi, yaitu dengan puncak nomor 101, senyawa yang teridentifikasi dengan nama komposisi terbesar 3,26109%, dengan nama senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoyleglucoside) dapat dilihat pada gambar 4.8. sedangkan senyawa yang teridentifikasi pada puncak nomor 113 dengan komposisi senyawa komposisi senyawa 3,26141%. Dengan nama senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside yang terdapat pada gambar 4.9



Gambar 4.7 hasil chromatogram dari LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)



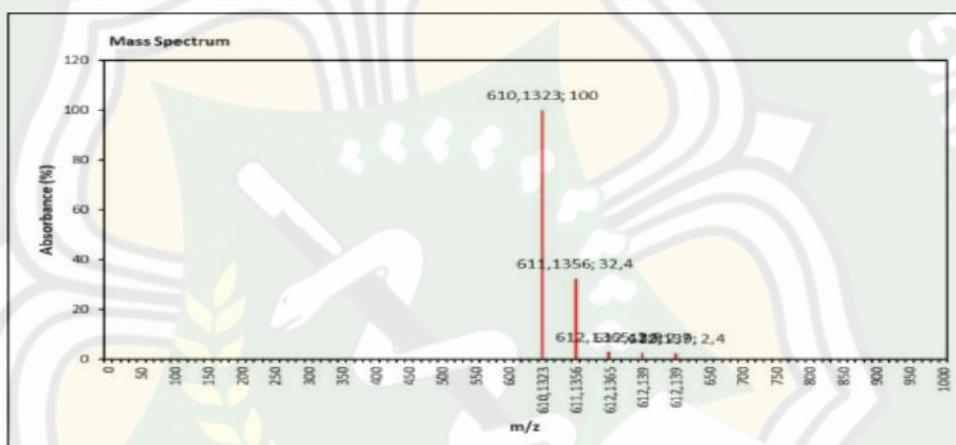
Gambar 4.8 Hasil Struktur senyawa senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside).



Gambar 4.9 Hasil Struktur senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside.

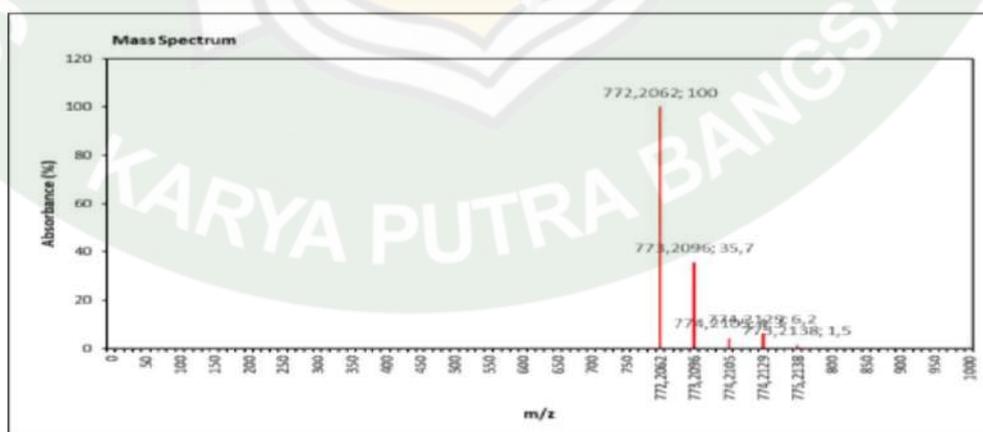
Gambar mass spectrum senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside) dapat dilihat pada gambar 5.1, diketahui senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside) memiliki berat molekul (m/z) 610.1323, dengan rumus kimia $C_{30}H_{26}O_{14}$. Sedangkan mass spectrum senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside dapat dilihat pada gambar 5.2, diketahui senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside memiliki berat molekul (m/z) 772.2062 dengan rumus kimia $C_{33}H_{40}O_{21}$.

Mass spectrum



Gambar 4.10 senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside).

Mass spectrum



Gambar 4.11 senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside.

Aktivitas antibakteri dan dipilih puncak tertinggi dari hasil cromathogram LC-MS (*Liquid Chromatrography-Mass Spectrometry*) terdapat dua senyawa diatas, kedua senyawa merupakan tersebut teridentifikasi diduga golongan senyawa flavonoid (Fatimah, et.al., 2020). Flavonoid bekerja antibakteri yakni dengan beberapa aksi mekanisme, seperti menghambat fungsi dari sitoplasma membran, lalu menghambat dari asam nukleat, dan metabolisme energi dari bakteri. menghambat sintesis RNA yang ada didalam sel DNA, senyawa flavonoid mengganggu metabolisme dalam bakteri, merusak membran selnya dengan diikuti pelepasan senyawa yaitu intraseluler bakteri tersebut (Nuria et al., 2009).

| | | Tests of Normality | | | | | |
|-------------|-----------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | konsentrasi | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| zona hambat | kontrol positif | ,276 | 3 | . | ,942 | 3 | ,537 |
| | kontrol negatif | . | 3 | . | . | 3 | . |
| | konsentrasi 15% | ,191 | 3 | . | ,997 | 3 | ,900 |
| | konsentrasi 20% | ,314 | 3 | . | ,893 | 3 | ,363 |
| | konsentrasi 25% | ,219 | 3 | . | ,987 | 3 | ,780 |

a. Lilliefors Significance Correction

| | | Tes Homogenitas | | | |
|-------------|--------------------------------------|------------------|-----|-------|------|
| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| zona hambat | Based on Mean | 5,759 | 4 | 10 | ,011 |
| | Based on Median | 1,175 | 4 | 10 | ,378 |
| | Based on Median and with adjusted df | 1,175 | 4 | 2,728 | ,475 |
| | Based on trimmed mean | 5,217 | 4 | 10 | ,016 |

ANOVA

zona hambat

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 3289,067 | 4 | 822,267 | 18,300 | ,000 |
| Within Groups | 449,333 | 10 | 44,933 | | |
| Total | 3738,400 | 14 | | | |

| | | zona hambat | | | |
|------------------------|-----------------|-------------------------|-------|---------|---------|
| | | Subset for alpha = 0.05 | | | |
| | konsentrasi | N | 1 | 2 | 3 |
| Tukey HSD ^a | kontrol negatif | 3 | ,0000 | | |
| | konsentrasi 25% | 3 | | 22,6667 | |
| | konsentrasi 15% | 3 | | 25,3333 | |
| | konsentrasi 20% | 3 | | 30,0000 | 30,0000 |
| | kontrol positif | 3 | | | 46,0000 |
| | Sig. | | 1,000 | ,675 | ,088 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Analisa data dilakukan guna untuk pemeriksaan, membuat sebuah data guna memperoleh informasi dan petunjuk dalam mengambil keputusan. Pada penelitian kali ini, analisa data menggunakan SPSS 25 dengan fungsi untuk melihat fraksi etil asetat dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) bisa menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Analisa data pertama dengan uji normalitas, hasil uji normalitas pada kontrol positif dengan signifikansi 0,537, konsentrasi 15% dengan nilai signifikansi 0,900, konsentrasi 20% memiliki nilai signifikansi 0,363, dan konsentrasi 25% dengan nilai signifikansi 0,780, diartikan bahwa nilai signifikansi yang dihasilkan lebih dari 0,05 yang berarti dikatakan normal.

Uji normalitas dengan tujuan Uji ini sebagai pengukur apakah data mempunyai distribusi normal yang dapat digunakan sebagai statistik parametrik. Uji dengan *One-Way Anova* tujuannya untuk membedakan rata-rata sampel, dengan melakukan uji homogenitas yang tujuannya yakni Uji ini untuk uji kesamaan (homogenitas) dari sampel, dengan mengetahui variasi sampel yang diambil dari populasi sama itu seragam atau tidak. Uji yang digunakan *Levene statistic* (Ghazali, 2011). Pada hasil

yang diperoleh pada uji lanjut dikatakan berbeda nyata, pada urutan pertama ada kontrol negatif dengan nilai 0, pada urutan kedua ada konsentrasi 15% dengan nilai 22,6667 dan 25% dengan nilai 25,3333, pada urutan berikutnya konsentrasi 20% dan kontrol +. Hasil dari konsentrasi 20% mendekati nilai dari kontrol positif yakni 46,0000.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian yang dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Penelitian dari fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.
2. Pada variasi konsentrasi 15%, 20%, 25%, yang mempunyai zona hambat optimum terhadap *Escherichia coli* yakni pada konsentrasi 20% yang hasilnya hampir mendekati kontrol positif dengan nilai 30mm, dan dapat dilihat pada data One-Way Anova.
3. Pada penelitian dengan identifikasi senyawa dengan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*). didapatkan 115 senyawa yang terkandung dalam daun jinten (*Plectranthus amboinicus*), dan diambil dua senyawa yang mempunyai puncak chromatogram tertinggi yakni komposisi terbesar 3,26109%, dengan nama senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside), kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside dengan komposisi senyawa 3,26141%.

5.2 Saran

Pada hasil uji antibakteri ini, perlu dilakukan penelitian dengan metode lain seperti soxhletasi, dan uji antibakteri menggunakan bakteri gram positif, dan isolasi metabolit sekunder dengan metode KLT.

DAFTAR PUSTAKA

- Achroni, K. (2012). Semua Rahasia Kulit Cantik dan Sehat Ada Di sini. *PT. Buku Kita*.
- Agustianasari, I. et.al. (2015). uji aktivitas antibakteri ekstrak dan biji jinten hitam (*nigella sativa* L.) terhadap bakteri *Bacillus* dan *Escherichia coli*. *farmasi, gelombang 2, ISSN : 2460-6472*.
- Amin, L.Z. (2014). Pemilihan Antibiotik yang Rasional. *Medicus, 27(3), pp.40-45*.
- Andrews. (2006). Determination of Minimum Inhibitory Concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy; 48;5-16*.
- Andriani, M.D., Purnawarman, T., Damayanti, R., Daulay, S., Magister, P., Kesehatan, B., Veteriner, M., Hewan, F.K., Besar, B., Standar, U., Pertanian, K., & Timur, J. (2016). Identifikasi *Listeria monocytogenes* pada Susu Kambing di Kabupaten Purworejo Jawa Tengah. *34(7388), 16-23*.
- Ayndri, N. P. (2015). koefisien transfer massa kurkumin dari temulawak. *jurnal ilmiah widya teknik, Volumw 14 Nomor 01, ISSN 1412-7350*.
- Alaydrus S. (2020). Tingkat Pengetahuan Masyarakat Terhadap Pembuatan dan Penggunaan Obat Tradisional di Desa Sunju RT II Kecamatan Marawola Kabupaten Sigi Provinsi Sulawesi Tengah. *Jurnal Farmasi FKIK Vol.8 No.2, P ISSN: 2355-9217, E ISSN: 2721-5210*.
- BPOM RI. (2012). Badan Pengawas Obat Makanan Republik Indonesia. *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*.
- Backer, C.A & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. (1965). Flora of Java (Spermatophytes Only). *Vol. II. N.V.P. Noordhoff, Groningen*.
- Chairunnisa. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Vol. 7, No. 4, 551-560, Desember 2019*.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia,*.
- Depkes RI. (1985). cara pembuatan simplisia. *jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Dima L.L.R.H., Fatimawati., & Lolo W.A. (2016). Uji Aktiivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT Vol.5 No.2, ISSN 2302-2493*.

- Ergina, Nuryanti, S. and P. (2014). Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves(*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Etanol. *Jurnal Akademia Kimia*, 3, 165-172.
- Firizki, F., (2013). Pattern Sensitivity of *Escherichia coli* and *Klensiella sp.* to Antibiotic Sefalosporin Period of Year 2008-2013 in Bandar Lampung. *pp.64-73*.
- Fatimah, et.al. (2020). deteksi dan identifikasi senyawa flavonoid ekstrak kulit batang tanaman majapahit(*Crescentia cujete*) dengan LC-MS. *chessa*, VOL.3, hAL 88-89.
- Gomes, T.A., Hernandez, R.T., Torres, A.G., Salvador, F.A., Guth, B.E.C., Vaz, T.M., Irino, K., Silva, R.M., & Vieira, M.A.. (2011). Adhesinenconding genes from Shiga toxin-producing *Escherichia coli* are more prevalent in atypical than in typical enteropathogenic E. coli. *Journal of Clinical Microbiology*,(49):3334-333710 DOI:10.1128/JCM.00779-11.
- Ghazali, I. (2011). aplikasi analisis multivariante dengan program SPSS19. Semarang, BP Universitas Diponegoro.
- Hatupea. (1994). Metode Fitokimia. ITB Press.
- Hazimah. (2013). Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobia dari. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia* 1(2), Maret 2013: 39-42 ISSN 2302-187X.
- Harborne, J.B., (2006). *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : Penerbit ITB. Hal: 7-8, 69-71, 102-104, 155.
- Himawan, R.F. (2010). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi(KCKT).
- Isnawati R. (2013). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi(HPLC).
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. (2013). *Medicinal Microbiologi*. 26th ED. United States : The McGraw-Hill Companies. Hal: 43.
- Jawetz et al. (2008). mikrobiologi kedokteran. *EGC. Jakarta. Hlm.357-359*.
- Kaban V.E. (2018). Uji Aktivitas Kandungan Antioksidan Pada Daun Bangun-Bangun (*Plectranthus Ambrinus*) Secara Spektrofotometri Ultraviolet-Visible. *Jurnal Farmasimed (JFM)Vol. 1 No.1, 1*.
- Kabense R., Ginting E.V., Wullur S., Kawung J.N., Losung F., & Tombokan J.L. (2019). Penapisan Bakteri Proteolitik yang Bersimbiosis dengan Alga *Gracillaria sp.* *Jurnal Ilmiah Platax, Fakultas Perikanan dan Kelautan, ISSN: 2302-3589*.
- Kurniawati E. (2015). Daya Antibakteri Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. *Jurnal Wiyata, Vol.2 NO.2*.

- Maradona, D. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zybethinus L.*), Daun Lengken, (*Dimocarpus longan Lour*), dan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah.
- Munawaroh, S., Handayani, P., & Astuti. (2010). Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan Pelarut Etanol dan N-heksana. 2(1): 73-78. Universitas Negeri Semarang.
- Marwati dan Amidi. (2018). Pengaruh Budaya, Persepsi, dan Kepercayaan Terhadap Keputusan Pembelian Obat Herbal. *Jurnal Ilmu Manajemen Vol.7 No. 2 Juni*.
- Novitasari, A.E dan D.Z. Putri. (2016). Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains.6(12):10-14*.
- Nurhamidin, A.P.R., Fatimawali., & Antasionasti, I. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-heksan Biji Buah Langsung (*Lansium domesticum Corr*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacon, Volume 10, Nomor 1*.
- Ningrum, M.P. (2017). Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumpun Laut merah (*Euchema cottonii*). Fakultas Teknologi Pertanian: Universitas Brawijaya, Malang.
- Pratiwi, S.T., (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga. Hal: 188-191, 135-137.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R. & Pramono, S., (2016). Ethanol Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Hexan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana L.*) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research, 01, pp.71-82*.
- Prayitno, S.A., J. Kusnadi, E.S. Murtini (2016). antioxidant activity of red betel leaves extract (piper crocatum ruiz and pav.) by different concentration of solvent. *journal of pharmaceutical, biological and chemical science 7(5):1836-1843*.
- Ratnawati, D. (2011). Preliminary Test of Determination of Alkaloid and Steroid Compounds and Bioassay on Some Vegetable Plant Extract. *Jurnal Gradien Vol.7 No.7, 692-696*.
- Silalahi, M. (2018). *Plectranthus Amboinicus (Lour.) Spreng. Volume 11, Nomor 2, Juli 2018: 123-138*.
- Sani, R.N., Fithri C.N., Ria D.A., dan Jaya M.M. (2014). Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut Tetraselmis chuii. *Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2(2):121-126*.

- Suryati, N. (2017). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Aloe Vera Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal kesehatan Andalas*.
- Sugiyono. (2013). Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D. *In Alfabeta(pp.60-64)*.
- Suharto, M.A.P., H.J. Edy dan J.M. Dumanauw. (2016). Isolasi dan identifikasi senyawa saponin dari ekstrak metanol batang pisang ambon(*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *Jurnal Sains.3(1):86-92*.
- Shahdadi, F., Mirzaei, H.O., & Garmakhany, A.D (2015). Study of phenolic compound and antioxidant activity of date fruit as a function of ripening stages and drying process. *Journal of Food Science and Tehnology,52, 1814-1819*.
- Simbolon and Yelmir M. (2018). Pembuatan Sabun Transparan Dengan Penambahan Ekstrak Daun Seledri Sebagai Antibakteri. *Chempublish, 3, 57-68*.
- Susanto, D., Sudrajat dan Ruga, R. (2012). Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie. 11(2): 181-190*.
- Suryaku, N.I. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air dan Ekstrak Daun Ungu(*Graptophyllum pictum*(L.) Griff) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta*. Saifudin, A and Rahayu, V. T.H.Y. (2011). standarisasi bahan obat bahan alam. *In Graha Ilmu*.
- Saifudin, A and Rahayu, V. T.H.Y. (2011). standarisasi bahan obat bahan alam. *In Graha Ilmu*.
- Sembiring. B. B., Ma'mun dan E, I. Ginting. (2008). pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak. *Bul Litro 17(2):53-58*.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan, 7(2): 361-367*.
- Tiwari, P. et al. (2011). Phytochemical Screening and Extraction. *A Riview. Internationale Pharmaceutica Scientia, 1(1), pp.98-106*.
- Ukoha PO, Cemaluk EAC, Nnamdi OL & Madus EP. (2011). Tnnins and other phytochemical of the samanea saman pods and their antimicrobial activities. *African Journal of Pure and Applied Chemistry. 5:237-244*.
- Wardhani R.R.A.A.K., Akhyar O., & Prasiska E. (2018). Analisis Skrining Fitokimia, Kadar Total Fenol-Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Kayu Tanaman Galam Rawa Gambut(*Melaleucea cajuputi roxb*). *Al Ulum Sains dan Teknologi Vol.4 No.1*.

- Wiegend , I., Hilpert, K., & Hancock, R.E.W. (2008). Agar and Broth Dilution Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration(MIC) of Antimikrobia Substances. *Nature Protocols*;3 ;163-175.
- Wuryantoro, H dan W. H. Susanto. (2014). penyusun standart operating prosedur industri rumah tangga pangan pemanis alami instan sari stevia(*Stevia rebaudiana*). *jurnal pangan dan Agroindustri* 2(3):76-87.
- Widayanti, S. M., A. W. Perman, H.D.Kusumaningrum. (2009). kapasitas kadar antosianin ekstrak tepung kulit buah manggis(*Garcinia mangostana* L.) pada berbagai pelarut dengan metode maserasi. *pascapanen*, 6(2):61-68.
- Winangsih dan Prihastanti, E., Parman, S. (2013). pengaruh metode pengeringan terhadap kualitas simplisia lempuyang wangi(*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*.21(1), 19-25.
- Yuniarachma. (2019). Respon Pertumbuhan dan Kandungan Flavonoid Tanaman Bangun-Bangun (*Plectranthus amboinicus* Lour.) pada Berbagai Kerapatan Naungan dan Dosis Pupuk Nitrogen. *Vol. 7 No. 12, Desember 2019: 2206–2214*.


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 Jintan

Memenuhi permohonan saudara :

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

1. Perihal determinasi tanaman daun jintan

| | |
|-------------|--|
| 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. |
| Simonim | : <i>Coleus amboinicus</i> Lour. |
| Nama Daerah | : Daun Jintan (Indonesia), bangun-bangun (Batak), sakan (Melayu), ajiran (Sunda), daun jintan (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, CGGJ. 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

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

Lampiran 2. Sertifikat bakteri *Escherichia coli*


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 : bbksurabaya.id; Surat elektronik : bbksurabaya@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 Senggangi (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*."

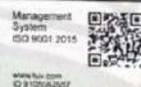
Keterangan jenis strain

Bakteri : *Escherichia coli*
 ATCC : ATCC 25922
 Passage : #4

 Hasil Uji Biokimia bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 :

| NO | JENIS UJI | HASIL | |
|----|---------------------|----------------------|---------|
| 1 | Pengecatan Gram | Gram negatif batang | |
| 2 | KIA | Lereng | Acid |
| | | Dasar | Acid |
| | | Gas | Positif |
| | | H ₂ S | Negatif |
| 3 | Glukose | Positif, Gas Positif | |
| 4 | Laktose | Positif, Gas Positif | |
| 5 | Maltose | Positif, Gas Positif | |
| 6 | Mannose | Positif, Gas Positif | |
| 7 | Sukrose | Negatif | |
| 8 | Indol | Positif | |
| 9 | Methyl Red | Positif | |
| 10 | Voges Proskauer | Negatif | |
| 11 | Simon sitrat | Negatif | |
| 12 | Urease | Negatif | |
| 13 | Motility | Positif | |
| 14 | Lysin Decarboxilase | Positif | |

Manajer Teknis

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


1. Tanaman jinten.



Keterangan : (a.) Tanaman jinten

2. Pembuatan ekstrak.



(a.) daun jinten dikeringkan



(b.) proses maserasi



(c.) hasil maserasi



(d.) ekstrak pekat

3. Skrining fitokimia.



Keterangan : (a.) alkaloid, (b.) flavonoid, (c.) saponin, (d.) tanin

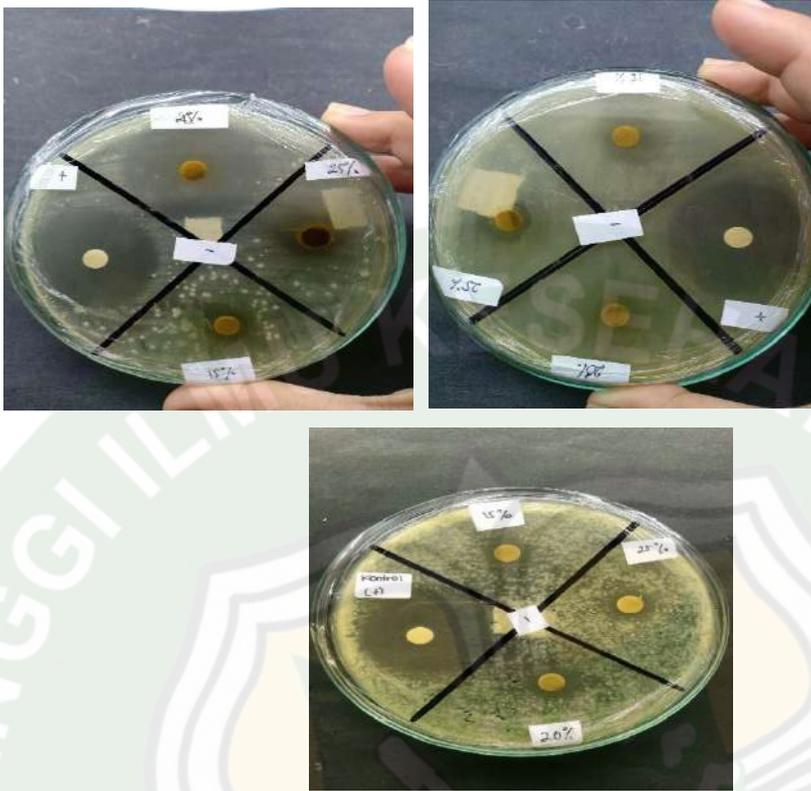
4. Fraksinasi.



5. Identifikasi bakteri.

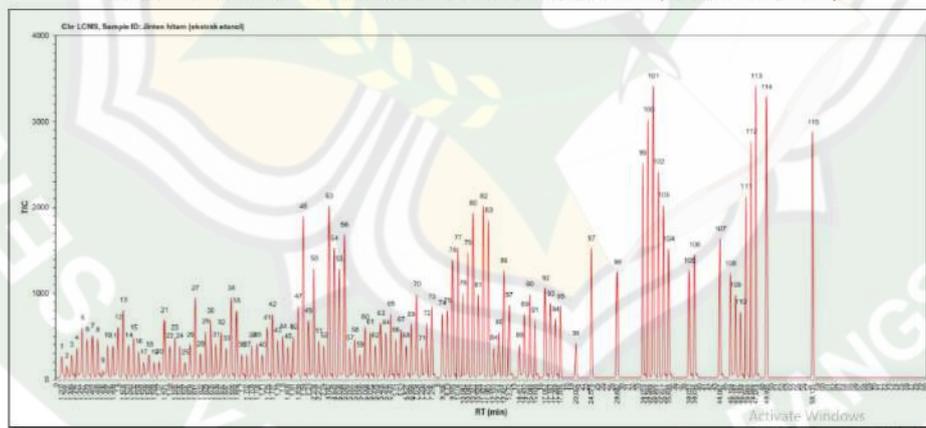


6. Uji aktivitas antibakteri.



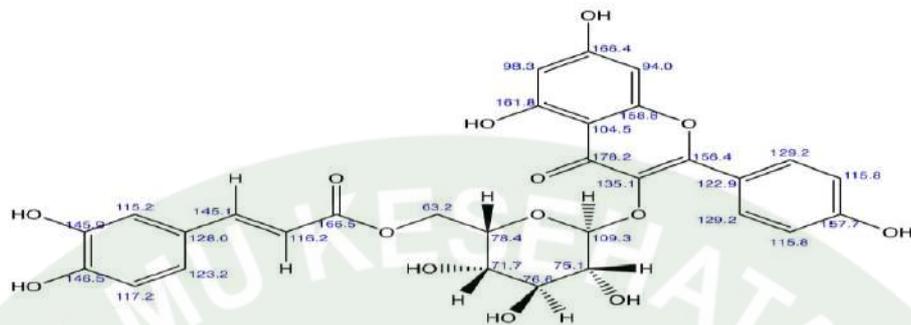
Lampiran 3. Hasil uji lc-ms

LCMS CHROMATOGRAM RESULT, SAMPLE ID: DAUN JINTEN HITAM (FRAKSI ETIL ASETAT)

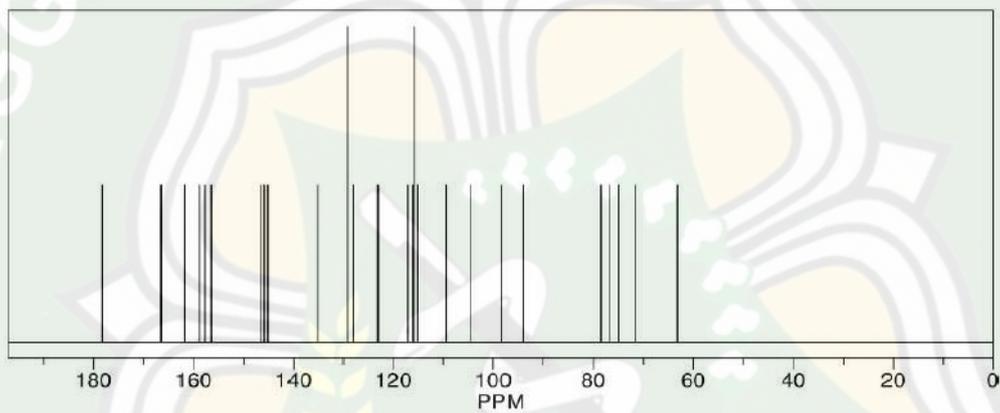


NMR ^{13}C estimation

ChemNMR ^{13}C Estimation



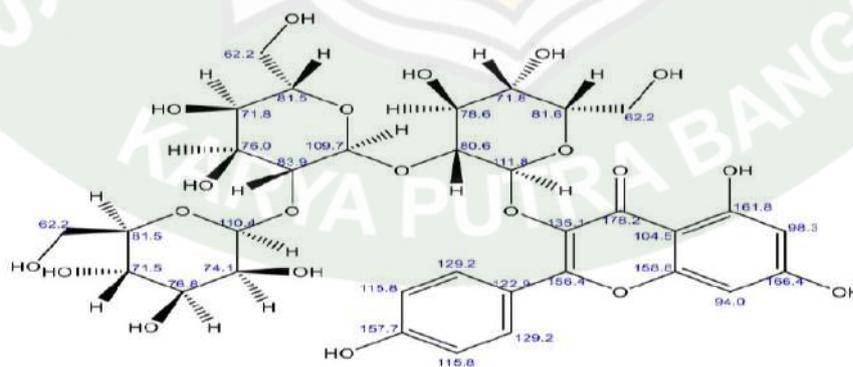
Estimation quality is indicated by color: good, medium, rough



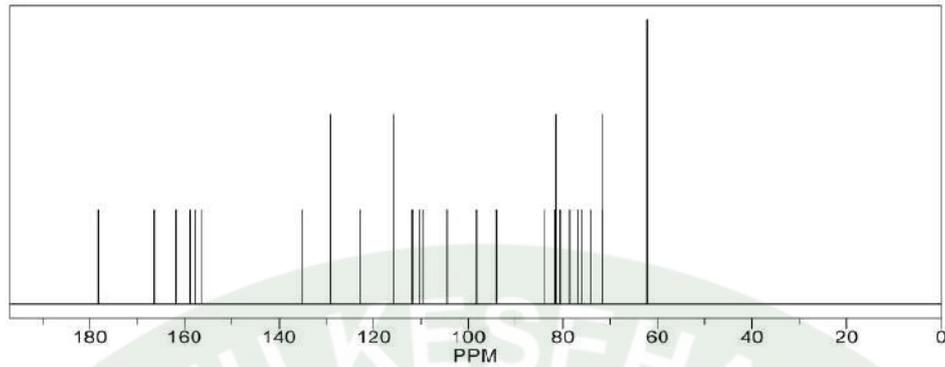
Keterangan: Estimasi NMR senyawa kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside).

NMR ^{13}C estimation

ChemNMR ^{13}C Estimation



Estimation quality is indicated by color: good, medium, rough



Keterangan: Estimasi NMR senyawa kaempferol 3-glucosyl-(1→2)galactosyl-(1→2)-glucoside.

Lampiran 4. Data statistika

Data normalitas

Tests of Normality

| | konsentrasi | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------|-----------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| zona hambat | kontrol positif | ,276 | 3 | . | ,942 | 3 | ,537 |
| | kontrol negatif | . | 3 | . | . | 3 | . |
| | konsentrasi 15% | ,191 | 3 | . | ,997 | 3 | ,900 |
| | konsentrasi 20% | ,314 | 3 | . | ,893 | 3 | ,363 |
| | konsentrasi 25% | ,219 | 3 | . | ,987 | 3 | ,780 |

a. Lilliefors Significance Correction

Data homogenitas, *One-Way Anova* :

ANOVA

zona hambat

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 3289,067 | 4 | 822,267 | 18,300 | ,000 |
| Within Groups | 449,333 | 10 | 44,933 | | |
| Total | 3738,400 | 14 | | | |

zona hambat

| | | Subset for alpha = 0.05 | | | |
|------------------------|-----------------|-------------------------|-------|---------|---------|
| | konsentrasi | N | 1 | 2 | 3 |
| Tukey HSD ^a | kontrol negatif | 3 | ,0000 | | |
| | konsentrasi 25% | 3 | | 22,6667 | |
| | konsentrasi 15% | 3 | | 25,3333 | |
| | konsentrasi 20% | 3 | | 30,0000 | 30,0000 |
| | kontrol positif | 3 | | | 46,0000 |
| | Sig. | | | 1,000 | ,675 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Perhitungan.

1. Uji susut pengeringan

$$\frac{\text{berat akhir 1kg}}{\text{berat awal 20kg}} \times 100\% = 5\%$$

2. Uji kadar air

$$\frac{12g - 11g}{12g} \times 100\% = 8,33\%$$

3. Uji rendemen

$$\frac{100g}{1000g} \times 100\% = 10\%$$

3. Perhitungan pembuatan media

$$3 \text{ plate} \times 20\text{ml} = 60$$

$$\frac{60}{1000} \times 20 = 1,2g$$

Jadi 1,2g dilarutkan 60ml aquadest

