



Analysis of the Ethyl Acetate Fraction of Cumin Leaves (*Plectranthus amboinicus*) as an Antimicrobial against *Staphylococcus aureus* using LC-MS

Penggunaan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometer* (LC-MS) untuk Menganalisis Senyawa dalam Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebagai Potensi Antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*

Rahma Diyan Martha^{1*}, Ayu Insa Fajri¹, Danar², Siti Nurriyatul Kholifah¹ dan Hesty Parbuntari³

^{1*)} STIKes Karya Putra Bangsa, Department of Pharmacy, Indonesia

²⁾ Universitas Negeri Malang, Department of Chemistry, Indonesia ³⁾ Universitas Negeri Padang, Department of Chemistry, Indonesia

*Corresponding author: rahmadiyan@stikes-kartrasa.ac.id

Received: November 30, 2024 Accepted: July 18, 2024 Published: October 31, 2024

ABSTRACT

The research investigates the antibacterial potential of cumin leaves due to their rich composition of flavonoid compounds, alkaloids, saponins, and tannins. The study's objectives encompass assessing the antibacterial efficacy of cumin leaf's ethyl acetate fraction against *Staphylococcus aureus* bacteria, identifying the concentration of this fraction yielding the most substantial inhibition zone, and characterizing the compound composition within the fractionated cumin leaf extract. Extraction involved maceration using 96% ethanol and fractionation through water, n-hexane, and ethyl acetate solvents. The ethyl acetate fraction's phytochemical screening affirmed the presence of flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins. Liquid chromatography-mass spectrometer (LC-MS) analysis pinpointed the top two peaks as flavonoid compounds. Antibacterial assessments, executed via paper disc diffusion method, employed concentrations of 15%, 20%, and 25% of the ethyl acetate cumin leaf extract against *Staphylococcus aureus*, each repeated thrice. The 20% concentration exhibited the most substantial inhibition zone, averaging 23.1mm, compared to 16.8mm for 15% and 19.6mm for 25%, indicating its optimal efficacy against *S. aureus* growth. Statistical analysis employing ANOVA testing underscored the significance of the ethyl acetate cumin leaf fraction's concentration variations on *S. aureus*, as evidenced by a p-value of 0.00 (below the significance threshold of 0.05). This underscores the impact of the ethyl acetate cumin leaf fraction's concentrations on inhibiting *S. aureus* growth. The findings shed light on the potential of cumin leaves as a source of antimicrobial agents, with the 20% ethyl acetate fraction exhibiting notable effectiveness, opening avenues for further exploration and applications in antibacterial research.

Keywords: Cumin leaves, antibacterial, flavonoids, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

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 Sinulingga (2012) 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.

Menurut Sinulingga (2011), hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak daun jinten dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Namun untuk 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.

METODOLOGI

Bahan

Daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang segar, etanol 70%, n-heksana, etil asetat, aquadestilata, *Nutrient Both* (NB), *Nutrient Agar* (NA), bakteri *Staphylococcus aureus*, antibiotik kloramfenikol.

Alat

Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) (Shimadzu), Erlenmeyer (*PIREX*®), tabung reaksi (*PIREX*®), rak tabung reaksi, tabung reaksi (*PIREX*®), botol maserasi, aluminium foil, corong pisah (*PIREX*®), labu evaporator (*PIREX*®), cawan penguap (*PIREX*®), kaca arloji (*PIREX*®), pipet, blender (Maspion), spatula, gelas ukur (*PIREX*®), autoklaf, cawan petri (*PIREX*®), jarum ose, batang L, pinset, mikropipet, dan tip, lampu spiritus, kapas steril, vortex, *hot plate* (Masipon), oven (Memmert), lemari pendingin, *laminar air flow* (LAF), inkubator, cakram kosong steril dan alat-alat gelas standar laboratorium.

Prosedur

Determinasi Tanaman

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

Pembuatan Simplisia

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

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 semakin luas. Selanjutnya ditimbang 500 gram untuk dilakukan proses ekstraksi secara maserasi.

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

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:

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{B-A}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A= bobot daun basah (gram)

B= bobot daun kering (gram)

Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan cara kurang lebih 10 gram serbuk simplisia kedalam wadah yang telah ditara dan ditimbang, selanjutnya mengeringkan serbuk simplisia pada oven dengan suhu 105 °C sampai berat konstan, dilakukan penimbangan dan mencatat hasil yang diperoleh (Depkes RI., 2000). Rumus perhitungan uji kadar air yaitu:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A= bobot daun basah (gram)

B= bobot daun kering (gram)

Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

Uji Bebas Etanol

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).

Uji Organoleptik

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

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).

Rumus % rendemen =

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

Skrining Fitokimia

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).

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).

Tannin

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 $FeCl_3$ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 1987).

Saponin

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

Fraksinasi

Ekstrak etanol difraksinasi dengan pelarut bertingkat yaitu pelarut n-heksana, etil asetat, dan aquades. 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-heksana 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 1,5 gram, 2 gram, 2,5 gram yang dilarutkan dengan DMSO 5% dengan volume 10 ml.

Pembuatan Media

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).

Pembuatan Kontrol Negatif

Pembuatan larutan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian kali ini adalah dimetil sulfoksida DMSO 5%. Pembuatan

DMSO 5% dengan cara melarutkan DMSO sebanyak 5 ml dengan *aquadestilata*. *Dimetilsulfoxide* (DMSO) mempunyai aktivitas antibakteri pada konsentrasi diatas 5% dan pada konsentrasi 2% tidak efektif (Suryaku, 2017).

Pembuatan Media Nutrent 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)

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 kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (*World Health Organization* (WHO), 2010).

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).

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).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Ose dari biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan suspensi ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan di inkubasi 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).

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 di inokulasi 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 di inokulasikan 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 2x24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap terbentuknya zona hambat di sekitar *paper disc* (Kusumowati et al., 2014).

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).

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).

Uji Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS)

Pada menelitian 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.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Uji Susut Pengerangan Simplisia

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

Tabel 1. Hasil Uji Susut Pengerangan

Sampel	Bobot Awal (kg)	Bobot Akhir (kg)	Hasil (%)
Daun Jinten	20	1	5

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%. 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 2.

Tabel 2. Hasil Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Sampel	Bobot Awal (g)	Bobot Akhir (g)	Hasil (%)
Daun Jinten	12	11	8,33

Skrinning 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 3.

Tabel 3. Hasil skrining fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Ekstrak + reagen dragendroff	+
Flavonoid	Ekstrak + DMSO + dragendroff	+
Saponin	Ekstrak + HCL 2N	+
Tannin	Ekstrak + aquadest + NaCl + FeCl	+

Keterangan :

(+) terdapat senyawa

(-) tidak terdapat senyawa

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).

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. Menurut Nuria *et al.*, (2009) 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 2 ml, kemudian diaduk lalu dipanaskan kemudian disaring. Hasil dari penyaringan ditambahkan Mg dan HCl pekat sedikit demi sedikit.

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 Ergina *et al.*, (2014) senyawa saponin memiliki deversifikasi struktur yang luas, sebagian dari senyawa saponin memiliki sifat surfaktan yang dapat menyebabkan lisis pada dinding protozoa, sehingga dapat digunakan sebagai defaunasi protozoa.

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).

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 di inkubasi selama 24 jam lalu dilihat zona bening yang terbentuk disekitar paper disc. Leono et al, (2020) dalam penelitiannya mengatakan bahwa zona hambat dengan diameter ≥ 21 mm sangat kuat, zona hambat diameter 11-20 mm dinyatakan kategori kuat, zona hambat 6-10 mm dalam kategori sedang, zona hambat ≤ 5 mm dalam kategori lemah. Hasil zona hambat uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*.

Tabel 4. Diameter Zona Hambat Daun Jinten

Perlakuan	Rep I (mm)	Rep II (mm)	Rep III (mm)	Rata-rata (mm)	Ket.
15%	15,5	18	17	18,8	Kuat
20%	25	25,5	19	23,1	Sangat Kuat
25%	23	19,5	16,5	19,6	Kuat

K (+)	30,5	37	34,5	34	Sangat Kuat
K (-)	0	0	0	0	-

Keterangan:

K(+) Kloramfenikol 1%

K(-) DMSO 5%

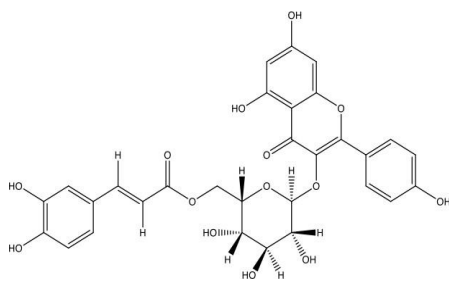
Uji aktivitas antibakteri dengan fraksi etil asetat ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan konsentrasi 15%, 20%, dan 25%. Tiga konsentrasi yang telah ditentukan tersebut mendapatkan hasil berupa zona bening di sekitar paper disc, diantaranya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

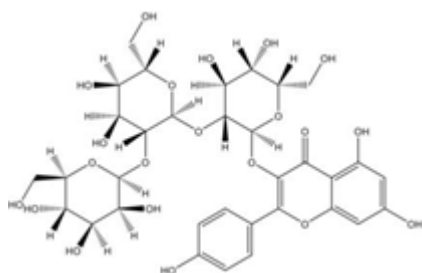
positif (Leono et al., 2020).

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 sampai tertinggi, dengan jumlah 115 senyawa yang ditemukan pada fraksi etil asetat daun jinten (*Plectranthus amboinicus*). Hasil puncak tertinggi yang teridentifikasi komposisi sebesar 3,26109% yang dinamakan *kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside)* pada Gambar 2. Sedangkan untuk senyawa yang teridentifikasi dengan puncak tertinggi ke dua dengan komposisi senyawa sebesar 3,26141% yang dinamakan *kaempferol 3-glucosyl-(1 2)galactosyl-(1 2)-glucoside* pada Gambar 3.



Gambar 2. Hasil struktur senyawa *kaempferol 3-(6''- caffeoylglucoside)*



Gambar 3. Hasil struktur senyawa *kaempferol 3-glucosyl-(1 2)galactosyl-(1 2)-glucoside*

Senyawa *kaempferol 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 $C_{33}H_{40}O_{21}$.

Menurut penelitian Fatimah et al., (2020) aktifitas antibakteri dari hasil analisis LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometri*) dipilih puncak tertinggi yang diduga merupakan senyawa flavonoid. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja yakni dengan menghambat sintesis RNA yang ada didalam sel DNA, senyawa flavonoid mengganggu metabolisme dalam bakteri, merusak membran sel dengan diikuti pelepasan senyawa yaitu intra selular bakteri tersebut.

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*.

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.

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.

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*.

Uji Post Hoc

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 bakteri *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+.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa Fraksi etil asetat dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Ini disebabkan oleh kandungan flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin dalam daun jinten yang efektif sebagai agen antibakteri. Zona hambat yang paling optimal terhadap *Staphylococcus aureus* terjadi pada konsentrasi 20%. Analisis LC-MS terhadap ekstrak etil asetat daun jinten menemukan 115 senyawa, dengan dua puncak tertinggi adalah kaempferol 3-(6"-caffeoylglucoside) dan kaempferol 3-glucosyl-(1 2)galactosyl-(1 2)-glucoside, dengan masing-masing memiliki berat molekul dan rumus kimia yang spesifik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini. Terima kasih kepada tim peneliti yang telah bekerja keras dalam merancang dan menjalankan eksperimen, serta menganalisis data dengan cermat. Penghargaan juga kami sampaikan kepada STIKes Karya Putra Bangsa yang telah memberikan dukungan fasilitas yang diperlukan untuk penelitian ini. Tidak lupa kami ucapkan terima kasih kepada semua individu yang telah memberikan masukan,

saran, dan bantuan teknis selama proses penelitian berlangsung.

REFERENSI

- Alfath, CR, Yulina, V & Sunnati 2013, 'Antibacterial effect of granati fructus cortex extract on streptococcus mutans in vitro', *Journal of Dentistry Indonesia*, vol. 20, no. 1, <https://doi.org/10.14693/jdi.v20i1.126>.
- Bahriul, P, Rahman, N & Diah, AWM 2014, 'Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan metode DPPH', *Jurnal Akademika Kimia*, vol. 3, no. 3, hh. 368-374.
- BPOM 2005, 'Skrining fitokimia ekstrak methanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum Roxb*)', Dirjen POM
- Depkes RI 2000, *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, edisi iv.
- Ergina, Nuryanti, S & Purtsari, ID 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*, vol. 3, no. 3.
- Fatimah, F, Martha, RD & Kusumawati, A 2020, 'Deteksi dan identifikasi senyawa flavonoid ekstrak etanol kulit batang tanaman majapahit (*Crescentia cujete*) dengan LCMS', *CHEESA: Chemical Engineering Research Articles*, vol. 3, no. 2, hh. 88, <https://doi.org/10.25273/cheesa.v3i2.7688.88.98>.
- Harborne, JB 1987, *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*, ITB, Bandung.
- Kusumowati, ITD, Melannisa, R & Prasetyawan, A 2014, 'Daya antibakteri ekstrak etanol daun senggani (*Melastoma affine D.Don*)', *Biomedika*, vol. 6, no. 2.
- Lailatul, M, Santi, M, Susila, NT & Rondius, S 2013, 'Efek anti radang dan toksisitas akut ekstrak daun jintan (*Plectranthus amboinicus*) pada tikus yang di induksi arthritis', *Makara Seri Kesehatan*, vol. 17, no. 1, hh. 33-40.
- Leono, LV, Edyson & Budiarti, LY 2020, 'Perbandingan aktivitas daya hambat sediaan tunggal dengan kombinasi infus *Phyllanthus niruri* dan *Peperomia pellucida*

- terhadap *Staphylococcus aureus*, *Homeostasis*, vol. 3, no. 1, hh. 75-82.
- Mulyatni, AS, Budiani, A & Taniwiryo, D 2016, 'Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*', *E-Journal Menara Perkebunan*, vol. 80, no. 2, <https://doi.org/10.22302/ppbbi.jur.mp.v80i2.39>.
- Nuria, M, Faizatul, 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*, vol. 26, no. 2.
- Pertiwi, DV, Ikhsanudin, A & Sugihartini, N 2017, 'Formulasi dan karakterisasi sediaan hydrogel minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum*) berbasis kitosan', *Jurnal Ilmu Farmasi*, vol. 14, no. 1, <https://doi.org/10.12928/mf.v14il.9831>.
- RI 2014, *Farmakope Indonesia edisi v*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, vol. 2, no. 5.
- Sari, RD 2015, 'Sekitar perakaran tanaman isolation and identification soil bacteria around plant roots', *Bio-Site*, vol. 01, no. 1.
- Sarlina, S, Razak, AR & Tandah, MR 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)*, vol. 3, no. 2, <https://doi.org/10.22487/j24428744.0.v0.i0.8770>.
- Setiari, NMN, Ristiati, NP & Warpala, IWS 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*, vol. 6, no. 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*, vol. 13, no. 1, <https://doi.org/10.24071/jpsc.2016.1300107>.
- 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.
- Suryaku, NI 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, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Vogeser, M & Seger, C 2008, 'A decade of HPLC-MS/MS in the routine clinical laboratory-goals for further developments', *Clinical Biochemistry*, vol. 41, no. 9, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.02.017>.
- Wardhani, DP, Sugianto, LO & Widyaningrum, PW 2020, 'Edukasi dan pelatihan investasi pasar modal Indonesia di kelurahan sukorejo', *Budimas*, vol. 02, no. 02.
- Wijayanti, ED & Susilowati, E 2017, 'Eksplorasi ekstrak etanol beberapa tumbuhan berpotensi sebagai antiketombe', *JRST: Jurnal Riset Sains Dan Teknologi*, vol. 1, no. 2, <https://doi.org/10.30595/jrst.v1i2.1671>.