



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN TEMBAKAU
INFERIOR JENIS KASTURI TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Salmonella typhi***

Oleh

Fatmawati Wilujeng

NIM 151710101062

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN TEMBAKAU
INFERIOR JENIS KASTURI TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Salmonella typhi***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

Fatmawati Wilujeng

NIM 151710101062

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2019

PERSEMBAHAN

Saya persembahkan skripsi ini untuk :

1. Allah SWT, puji syukur atas kehadiran-Nya yang telah memudahkan segala urusan hamba-Mu, semoga rahmat dan ampunanmu-Mu selalu mengiringi setiap langkah hamba-Mu dan beri ampun atas segala dosa hamba;
2. Rasulullah SAW, terima kasih telah membimbing umat manusia menjadi khalifah di bumi serta menjadi tauladan umatmu untuk mencapai sebuah kedamaian;
3. Orangtua tercinta, Ibu Anik Suparti, ayah Waluyo Hadi, terima kasih atas cinta, kasih sayang, doa serta semangat yang luar biasa;
4. Kakak pertamaku tersayang Hani Sakti Prasetyo dan Kakak keduaku Novian Dwi Ardiansyah serta seluruh keluarga besar yang selalu memberikan doa, dukungan, semangat, motivasi, yang selalu memberikan warna dalam kehidupan, sayang selalu untuk kalian;
5. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Jember.

MOTTO

“Setiap bertemu dengan orang baru, saya selalu mengosongkan gelas saya terlebih dahulu”

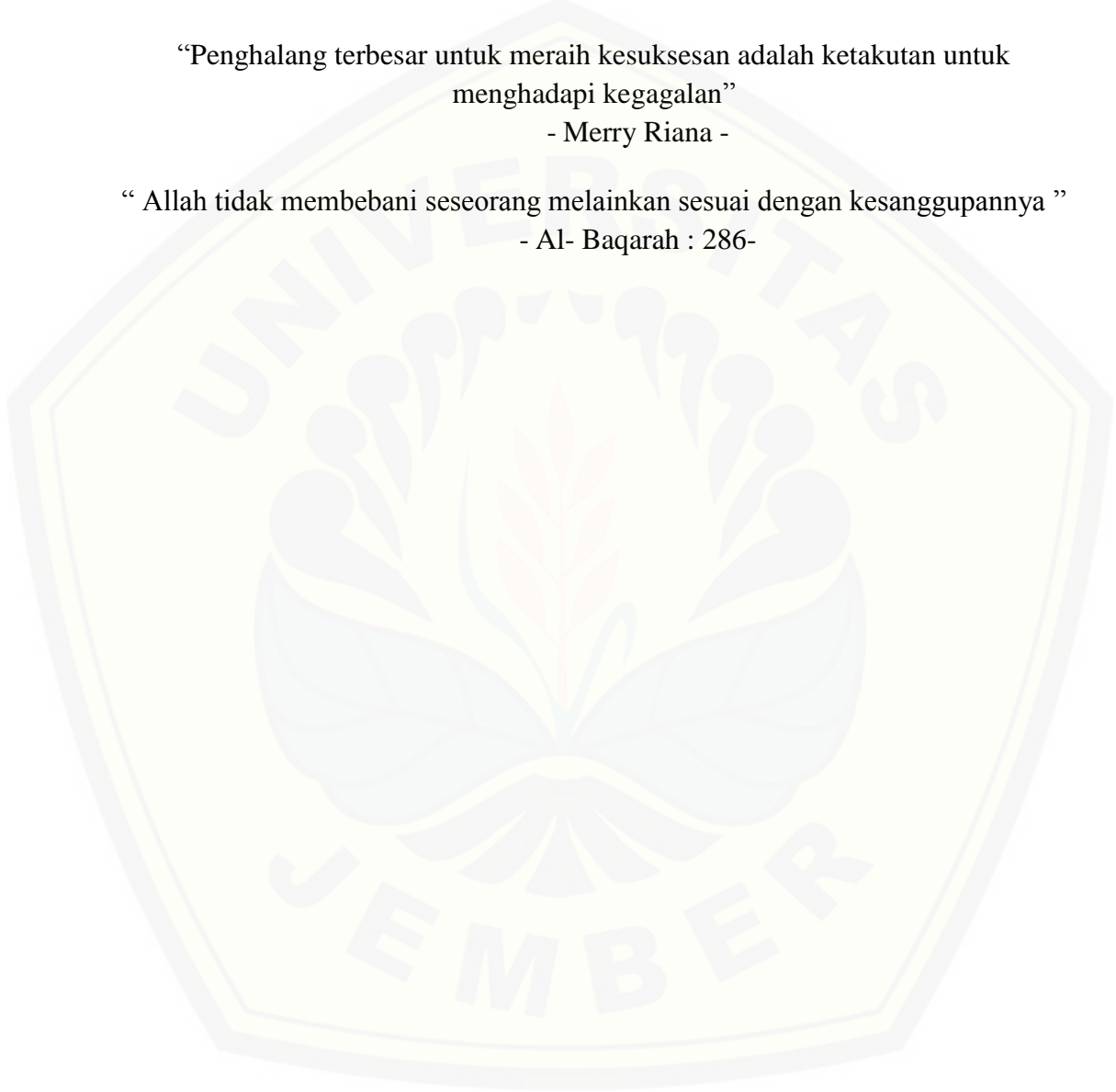
- Bob Sadino-

“Penghalang terbesar untuk meraih kesuksesan adalah ketakutan untuk menghadapi kegagalan”

- Merry Riana -

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

- Al- Baqarah : 286-



PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Fatmawati Wilujeng

NIM : 151710101062

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau Inferior Jenis Kasturi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi***” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri kecuali dalam kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan dalam institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta mendapatkan sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,2019

Fatmawati Wilujeng

NIM 151710101062

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN TEMBAKAU INFERIOR
JENIS KASTURI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Salmonella typhi***

Oleh :

Fatmawati Wilujeng

NIM 151710101062

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau Inferior Jenis Kasturi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi***” karya Fatmawati Wilujeng NIM 151710101062 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Jumat, 18 Oktober 2019

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App,Sc
NIP. 19641109 198902 1 002

Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si
NIP. 19630701 198903 1 004

Tim
Penguji :

Ketua

Anggota

Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si
NIP. 19790410 200312 2 004

Ir. Giyarto, M.Sc
NIP. 19660718 199303 1 013

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng
NIP. 19680923 199403 1 009

SUMMARY

Antibacterial Activity of Kasturi Tobacco Leaf Extract Againsts *Staphylococcus aureus* and *Salmonella thypi*; Fatmawati Wilujeng; 151710101062; 2015; 39 pages; Departement of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Tobacco is a plant that is widely cultivated the city of Jember as a plantation other cocoa and coffee. Kasturi type of tobacco including is widwly cultivated, especially in Kalisat of Jember which reached 43.016,21 quintals at 2017, but tthere are parts of leaves that to dry on the tree until underutilized, one of them is a part of the leaves koseran (daun tanah). The portion according to tobacco farmer almost 10-20% of total harvest.

The leaf is belived to still be able to be utilized by extracting inferior castor tobacco leaves to be taken of its active compounds. Extractions is carried out on the leaf sheet by removing the portion of tobacco leaf bone, the extraction result are expected to be able used as a barrier to the growth of pathogenic bacteria which often unsettles community. Example of pathogenic bacteria are *Staphylococcus aureus* cause of food poisoning and *Salmonella thypi* as cause of thypoid.

This study used 80% water and ethanol solvents with variations in the addition of different extracts. The addition of variation extracts is expected to be able to inhibit bacterial growth optimally but with a minimal amount of extract. The study was conducted in several stages, those were extraction of tobacco leaves, analysis of total polyphenols (Follin-ciocalteau), analysis of antioxidant activity, (DPPH scavenging activity), and analysis of the antibacterial activity of tobacco leaf extracts by dilution method in order to determine IC₅₀ and Minimum Inhibitory Concentration (MIC).

The results showed that the kasturi tobacco leaf extract which had the appropriate criteria is the use of 80% ethanol solvent with a total polyphenol of 50.60 mgGAE/ml and antioxidant activity of 64.05%. The test in the antibacterial

activity of the dilution method in *Staphylococcus aureus* showed a MIC of 0.611 mg/ml and IC50 of 0.003 mg/ml, while *Salmonella thypi* showed a MIC of 2.072 mg/ml and IC50 of 0.342 mg/ml.



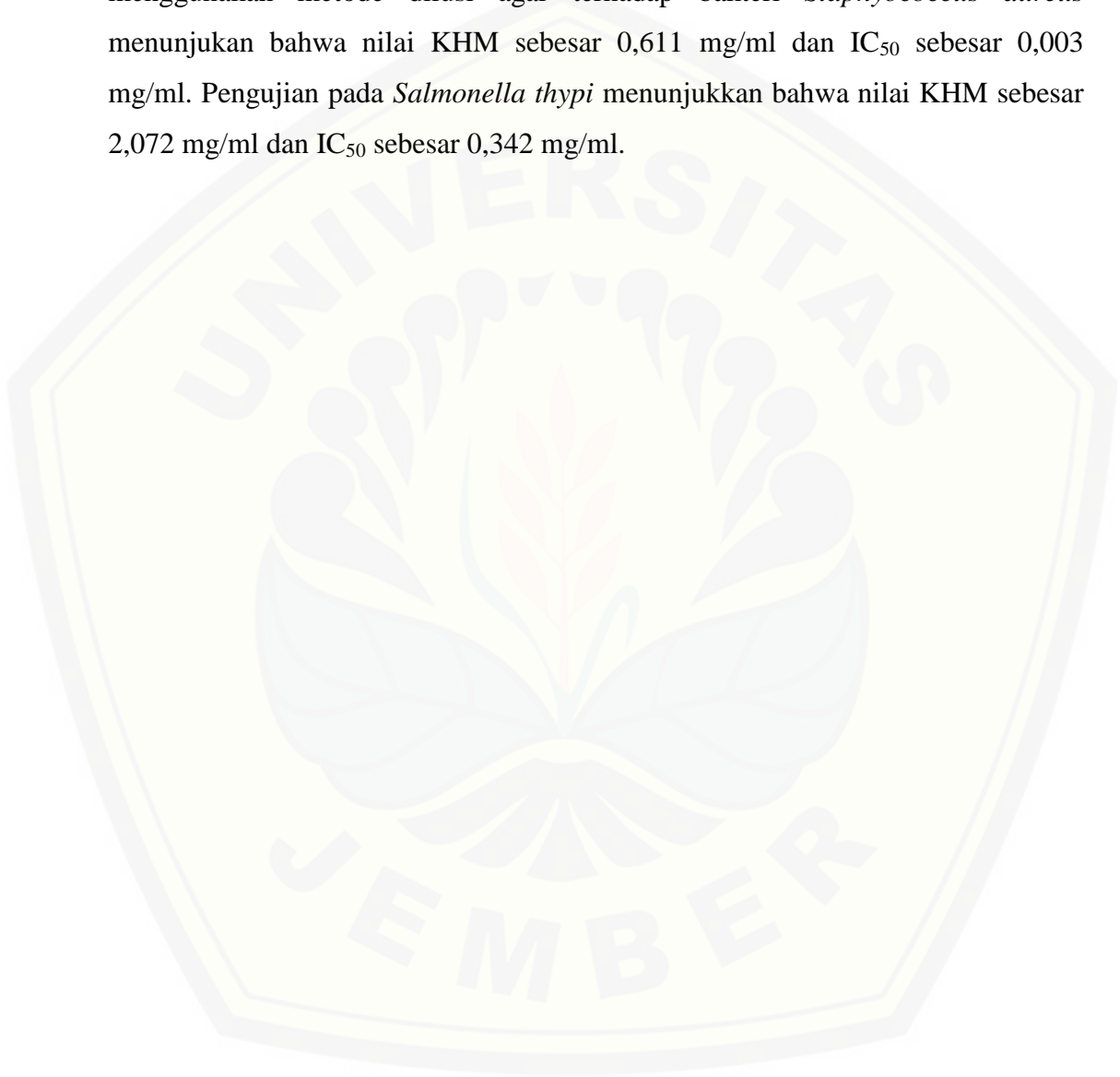
RINGKASAN

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau Inferior Jenis Kasturi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* ; Fatmawati Wilujeng; 2015; 151710101062; 39 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Tembakau merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan di kota Jember sebagai tanaman perkebunan selain kopi dan kakao. Tembakau jenis kasturi termasuk dalam tembakau yang banyak dibudidayakan terutama di wilayah Kalisat Kabupaten Jember yang mencapai 43.016,21 kwintal pada tahun 2017, namun terdapat bagian daun yang dibiarkan mengering dipohon sehingga kurang dimanfaatkan, salah satunya yakni bagian daun koseran (pasir). Bagian tersebut menurut petani tembakau jumlahnya mencapai 10-20% dari jumlah hasil panen. Daun tersebut diyakini masih dapat dimanfaatkan keberadaannya dengan cara mengekstrak bagian daun tembakau kasturi inferior tersebut untuk diambil senyawa aktifnya. Ekstraksi dilakukan pada bagian lembaran daun dengan menghilangkan bagian tulang daun tembakau, hasil ekstraksi diharapkan mampu digunakan sebagai penghambat tumbuhnya bakteri patogen yang kerap kali meresahkan masyarakat. Contoh bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus* sebagai penyebab keracunan pada makanan dan *Salmonella thypi* sebagai penyebab penyakit tipus.

Penelitian ini dilakukan dengan pelarut air 90°C dan etanol 80% dengan variasi penambahan ekstrak yang berbeda. Penambahan jumlah ekstrak yang bervariasi diharapkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara maksimal namun dengan jumlah ekstrak yang minimal. Penelitian dilakukan dalam beberapa tahapan, yakni ekstraksi daun tembakau, analisa total polifenol (*Follin-ciocalteau*), analisa aktivitas antioksidan, (DPPH *scavenging activity*), dan analisa aktivitas antibakteri ekstrak daun tembakau dengan metode dilusi agar untuk penentuan IC₅₀ dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun tembakau kasturi inferior saat dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% didapatkan kadar total polifenol sebesar 50,60 mgGAE/ml dan aktivitas antioksidannya sebesar 64,05%. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun tembakau kasturi menggunakan metode dilusi agar terhadap bakteri *Staphyococcus aureus* menunjukkan bahwa nilai KHM sebesar 0,611 mg/ml dan IC₅₀ sebesar 0,003 mg/ml. Pengujian pada *Salmonella thypi* menunjukkan bahwa nilai KHM sebesar 2,072 mg/ml dan IC₅₀ sebesar 0,342 mg/ml.



PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau Inferior Jenis Kasturi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*”** dengan baik. Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Teknologi Pertanian di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik oleh penulis atas dukungan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Dr. Ir. Jayus selaku Koordinator Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak membantu, membimbing, dan mengarahkan selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan arahan dan perbaikan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Orangtua tercinta untuk ibu Anik Suparti, ayah Waluyo Hadi, terimakasih atas kasih sayang, cinta, motivasi dan semangat yang luar biasa.
6. Kakak pertamaku tercinta Hani Sakti Prasetyo, dan kakak keduaku Novian Dwi Ardinsyah terimakasih atas doa, kasih sayang serta dukungan yang luar biasa kepada penulis.
7. Partner yang selalu ada dalam suka dan duka, Amirina Dwi Sarawanda dan Wilda Mukhollida. Terimakasih atas kasih doa, semangat dan motivasi kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
8. Partner pejuang proyek tembakau Susi Maimona Wati, Nurul Nofiyanti, Nala Umami Husaina, Agnes Emilda Pratiwi, Nani Masrurotin yang senantiasa

membantu penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi dan sebagai tempat berbagi keluh kesah dan suka cita.

9. Keluarga besar THP B 2015, keluarga UKM-O SAHARA, saudara HIMAGIHASTA, tim wisata Alfin Ajeng Deni Defi, dan rekan polos Belva Vidaloca Chrisari dan Irma Dwi Citra terima kasih kalian telah memberikan warna dalam hidupku.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan dukungan serta membantu pelaksanaan penelitian skripsi ataupun dalam penulisan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan di masa mendatang. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, Oktober 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
PENGESAHAN	vi
SUMMARY	vii
RINGKASAN	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tembakau Kasturi	4
2.2 Ekstrak Daun Tembakau sebagai Antibakteri.....	5
2.3 Ekstraksi Daun Tembakau.....	6
2.4 Mikroba Pathogen.....	7
2.5 Mekanisme Kerja Flavonoid sebagai Antimikroba	9
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	11
3.1 Tempat dan Waktu	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.2.1 Alat Penelitian.....	11
3.2.2 Bahan Penelitian	11
3.3 Rancangan Penelitian.....	12

3.4 Tahapan Penelitian.....	12
3.5 Prosedur Pengamatan	13
3.5.1 Uji Total Polifenol	13
3.5.2 Uji Antioksidan Metode DPPH	14
3.5.3 Penentuan KHM	15
3.6 Analisa Data.....	19
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Total Polifenol Ekstrak Tembakau Kasturi	20
4.2 Total Antioksidan Ekstrak Daun Tembakau Kasturi Inferior	21
4.3 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau Kasturi.....	23
BAB 5. PENUTUP.....	32
5.1 Kesimpulan	32
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	335

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi kimia daun tembakau	5
3.1 Pembuatan pelarut.....	12
3.2 Rancangan pengujian antimikroba ekstrak daun tembakau kasturi	12



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2 <i>Salmonella thypi</i>	9
2.3 Reaksi penguraian fosfoipida oleh flavon.....	10
3.1 Diagram alir pembuatan ekstrak daun tembakau kasturi	13
3.2 Penentuan respon penghambatan (KHM) dan IC ₅₀	19
4.1 Hasil ekstraksi menggunakan pelarut air dan etanol 80%	20
4.2 Total antioksidan ekstrak daun tembakau kasturi	22
4.3 Kurva probit ekstrak dengan pelarut etanol terhadap <i>Salmonella thypi</i> ...	24
4.4 Kurva probit ekstrak pelarut air terhadap <i>Salmonella typhi</i>	25
4.5 Kurva probit ekstrak pelarut etanol terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	26
4.6 Kurva probit ekstrak pelarut air terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	27
4.7 Kurva logaritmik ekstrak daun tembakau terhadap <i>Salmonella thypi</i> dengan variasi pelarut	29
4.8 Kurva reguler %hambat <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap ekstrak tembakau dengan variasi pelarut.....	30

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan pangan merupakan salah satu kebutuhan pokok masyarakat yang harus terpenuhi setiap hari bahkan setiap waktu. Bahan pangan diharapkan mampu memenuhi kebutuhan harian gizi yang sesuai dengan anjuran para ahli. Beberapa bahan pangan yang dikonsumsi harus memiliki kualitas yang baik agar tidak menimbulkan dampak buruk dari pangan tersebut. Menurunnya kualitas pangan dapat terjadi karena beberapa hal, salah satunya yakni adanya kontaminasi bakteri patogen. Maraknya polusi lingkungan menjadi sebab bahan pangan menjadi suatu tempat yang baik untuk rusaknya bahan pangan dan menyebabkan penyakit seperti keracunan makanan.

Keracunan makanan biasanya disebabkan oleh adanya kontaminasi mikroba patogen yang ada pada bahan pangan tersebut. Salah satu contoh bakteri patogen yakni *Staphylococcus aureus*, yang dapat menyebabkan keracunan makanan dan sindroma syok toksik (Ansari *et al.*, 2016). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang terdistribusi di seluruh dunia dan menjadi masalah yang semakin meningkat baik di rumah sakit maupun masyarakat. Hal ini dikarenakan adanya infeksi akibat *Staphylococcus aureus* dan biasanya hanya diatasi dengan pemberian antibiotik (Nismawati dkk., 2018). Menurut BBPOM Surabaya (2018), menyatakan bahwa data kasus keracunan di Jawa Timur terjadi sebanyak 2.115 kasus keracunan dari 76 rumah sakit di Jawa Timur.

Kontaminasi bakteri patogen menimbulkan beberapa penyakit berbahaya seperti keracunan makanan, rusaknya kandungan zat gizi, hingga menyebabkan penyakit bagi manusia. Contoh mikroba patogen yang menyebabkan penyakit organ pencernaan yakni *Staphylococcus aureus*, sedangkan bakteri patogen yang menyebabkan penyakit diare pada manusia yakni *Salmonella thypi*. Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut usus halus yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi*. Penularan demam tifoid melalui fecal dan oral yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (Widoyono, 2011).

Keberadaan bakteri patogen tersebut cukup meresahkan masyarakat, sehingga perlu dilakukan tindakan pencegahan. Pencegahan mikroba tersebut dapat menggunakan senyawa aktif yang merupakan zat biokatif dan memiliki aktifitas biologis sebagai antibiotik serta antitumor dari bahan-bahan alami. Bahan yang memiliki senyawa aktif contohnya dedaunan yang terdapat pada tanaman tembakau. Jember dikenal akan penghasil tembakau berkualitas ekspor, tanaman tembakau yang umum ditanam oleh rakyat yakni jenis kasturi, dengan biaya perawatan yang lebih mudah daripada jenis tembakau yang lainnya dan kondisi lingkungan yang cocok bagi wilayah Jember, sehingga mampu menghasilkan kualitas yang melimpah. Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember (2018), menyebutkan bahwa produksi tanaman tembakau jenis *Voor-Oogst* (VO) Kasturi pada tahun 2017 mencapai 43.016 kw dan tembakau *Na-Oogst* (NO) sebanyak 32.593 kw. Kecamatan Kalisat salah satu kecamatan di Jember yang memiliki produksi tembakau kasturi terbesar dibandingkan kecamatan lain dengan hasil produksi 9.956 kw

Daun tembakau kasturi sebagian besar dimanfaatkan sebagai bahan baku rokok, namun tidak semua daun kasturi digunakan. Daun bagian koseran/pasir mencapai 10-20% dari total panen masih kurang dimanfaatkan, hal tersebut dikarenakan kualitasnya tidak memenuhi kriteria yang dibutuhkan pasar seperti daun yang terlalu tua dan elastisitas daun menurun. Kandungan yang terdapat dalam daun tembakau kasturi inferior masih dapat dimanfaatkan, misalnya senyawa flavonoid. Menurut Miranda *et al.*, (2010) menyatakan bahwa senyawa antibakteri yang terdapat dalam tembakau yang diketahui misalnya flavonoid. Penelitian oleh Savira (2018), menyatakan bahwa konsentrasi 215,45 $\mu\text{g/ml}$ senyawa aktif dari ekstrak daun tembakau kasturi mampu menghambat bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Zat yang terkandung pada daun tembakau inferior dinilai dapat meningkatkan daya gunanya, sehingga dapat menjadi alternatif dalam pemanfaatan daun tembakau kasturi inferior, misalnya pemanfaatan kandungan polifenol sebagai anti mikroba. Berdasarkan bahan yang bersifat antibakteri tersebut, perlu adanya penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari daun tembakau Jember.

1.2 Rumusan Masalah

Daun tembakau umumnya hanya digunakan sebagai komposisi dari cerutu dan rokok, senyawa flavonoid dalam daun tembakau memiliki potensi yang baik untuk menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Kemampuan antimikroba dari daun tembakau diharapkan mampu untuk menghambat dan mencegah terjadinya kontaminasi mikroba patogen. Daun tembakau inferior (*low quality*) dari para petani diketahui tidak dilakukan pengolahan lanjutan, sehingga akan terbuang atau dibiarkan membusuk disekitar lumbung penyimpanan. Dengan adanya limbah tersebut, untuk mensiasatinya dapat dilakukan ekstraksi daun tembakau inferior dengan cara pengambilan ekstrak dengan metode maserasi. Diketahui bahwa ekstrak dari daun tembakau masih mengandung senyawa antimikroba yang mampu mengurangi eksistensi dari mikroba patogen.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu :

- a. Untuk mengetahui hasil ekstraksi daun tembakau Kasturi inferior menggunakan pelarut yang berbeda.
- b. Untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun tembakau kasturi Kalisat inferior terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai pengaruh penambahan zat antibakteri dari daun tembakau Kasturi inferior, sehingga diketahui aktivitas antibakteri dan kecepatan tumbuh dari bakteri patogen.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tembakau Kasturi

Tembakau kasturi adalah daun tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* Linn) tipe kasturi yang umumnya ditanam di daerah Jember dan sekitarnya, ditanam tepat waktu, dipanen pada musim kemarau dan dikeringkan dengan sinar matahari (*sun cured*) dalam bentuk lembaran serta difermentasi (SNI, 1996). Tembakau kasturi merupakan salah satu jenis tembakau lokal yang diolah dengan cara krosok (*zand blad*) dan dibudidayakan pada musim kemarau atau dikenal dengan istilah *voor oogst*. Cara pengeringan yang dilakukan pada tembakau kasturi termasuk dalam tipe *Burley*, karena pengeringannya menggunakan sinar matahari langsung. Tanaman tembakau kasturi banyak dibudidayakan di wilayah Jember dan Bondowoso (Susilowati, 2006). Menurut Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember (2018), menyatakan bahwa luas panen, rata-rata, dan total produksi tembakau Voor Oogst Kasturi di Kabupaten Jember 2017 wilayah Kecamatan Kalisat menempati peringkat pertama produksi tembakau kasturi dengan total produksi 9.956 kwintal dan luas panen 950 Ha. Sehingga Kecamatan Kalisat memiliki produksi tembakau kasturi terbanyak.

Daun tembakau kasturi banyak digunakan sebagai bahan pembuat cerutu, seperti pada bagian pembalut dan isian cerutu. Bagian dari tanaman tembakau yang banyak digunakan yakni pada daun tembakau, hal tersebut dikarenakan daun tembakau memiliki kandungan yang tidak dimiliki oleh semua tanaman, komponen kimia salah satunya yakni nikotin. Komposisi kimia daun tembakau menurut Tirtosastro (2010), dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi Kimia Daun Tembakau

Bahan	Persentase (%)
Selulosa	7-16
Trigliserida	1
Protein	3,5-20
Nikotin	0,6-5,5
Pati	2-7
Abu (Ca, K)	9-25
Bahan Organik	7-25
Lilin	2,5-8
Pektinat, polifenol, flavon, karotenoid, minyak atsiri, parafin, sterin	7-12

2.2 Ekstrak Daun Tembakau sebagai Antibakteri

Antibakteri diketahui sebagai bahan alami organik yang memiliki berat molekul rendah dibentuk oleh mikroorganisme dan tumbuhan yang mampu aktif dalam melawan mikroorganisme lain pada konsentrasi yang terbilang rendah. Pengembangan aktivitas ini melewati jumlah terbatas dari mekanisme antibakteri yang mampu berpengaruh pada dinding sel bakteri, metabolisme sel, sintesa protein, dan metabolit intermediet (Pramono *et al.*, 2017). Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan memiliki sifat bakterisidal jika pada konsentrasi cukup tinggi.

Optimalisasi komponen senyawa antimikroba dalam ekstrak daun tembakau masih diminati bagi Indonesia. Penghambatan antimikroba disebabkan oleh senyawa kimia metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid yang merupakan senyawa bioaktif yang bertindak sebagai antibakteri (Pramono *et al.*, 2017). Menurut Tarigan *et al.*, (2017) menyatakan bahwa, ekstrak daun tembakau dapat membantu mengobati infeksi yang diakibatkan oleh bakteri *A. hydrophila*, sehingga membantu kelulushidupan ikan nila yang mengalami infeksi bakteri tersebut. Hal tersebut dikarenakan pada ekstrak daun tembakau mengandung senyawa antibakteri berupa alkaloid, flavonoid, dan tanin yang dapat membunuh pertumbuhan *A. hydrophyla*. Flavonoid dan alkaloid mampu meningkatkan imun bawaan ikan nila, sehingga membunuh toksin yang masuk.

Ekstrak daun tembakau tidak hanya mampu membunuh mikroba yang berkembang pada hewan, melainkan pada rongga mulut manusia. Ekstrak daun tembakau mampu menghambat bakteri patogen yang terdapat pada rongga mulut seperti *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. Daun tembakau yang diekstrak menggunakan pelarut etanol memiliki daya antibakteri terhadap *S. mutans* dan *Candida albicans*. Konsentrasi terbaik dalam membunuh bakteri patogen yakni pada konsentrasi 80%. Diameter hambat terbesar dihasilkan pada konsentrasi ekstrak 80%, hal tersebut dikarenakan hasil diameter daya hambat ekstrak mencapai 6 mm hingga 11 mm (Putri, 2014).

2.3 Ekstraksi Daun Tembakau

Ekstraksi daun tembakau menghasilkan ekstrak daun tembakau yang berupa senyawa volatil dan semi volatil yang menjadi penentu standar kualitas tembakau dengan kekhasan aroma yang dimilikinya. Jenis senyawa pada ekstrak tersebut beragam komposisinya di setiap hasil ekstrak, tergantung karakteristik perlakuan pendahuluan bahan yang dikenakan sebelumnya. Menurut Peng *et al.* (2004), adanya proses fermentasi daun tembakau berpengaruh terhadap hasil ekstrak yang dihasilkan. Senyawa volatil dan semi volatil pada tembakau dapat diperoleh melalui metode ekstraksi pelarut (*solvent extraction*) dan distilasi (*distillation*). Umumnya, digunakan pelarut etanol untuk menghasilkan komponen bioaktif dari daun tembakau pada metode ekstraksi pelarut.

Prinsip maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya, pelarut akan masuk kedalam sel-sel tanaman melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara konsentrasi larutan didalam sel dengan diluar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (Puspitasari, 2016).

Ekstraksi daun tembakau dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu peralatan yang digunakan sederhana dan bahan aktif dalam simplisia akan lebih banyak terlarut. Berdasarkan rendemen ekstrak daun kersen yang diperoleh,

metode sokletasi juga lebih banyak dibandingkan dengan metode maserasi. hal inilah yang mendasari mengapa kadar flavonoid total metode sokletasi lebih besar dibandingkan metode maserasi. selain itu kemungkinan flavonoid total yang terdapat pada daun kersen lebih mudah tersari dengan metode sokletasi dibandingkan metode maserasi (Wijayanti, 2015).

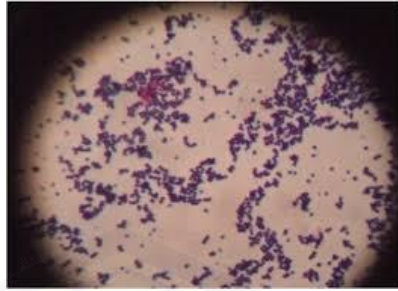
2.4 Mikroba Patogen

Mikroba patogen adalah organisme atau mikroorganisme yang menyebabkan penyakit pada organisme lain, dan kemampuan untuk menyebabkan penyakit disebut dengan patogenesis. Menurut Pratiwi (2017) mengatakan bahwa bakteri dikatakan bersifat patogen apabila memiliki kemampuan untuk melakukan transmisi, menempel pada sel inang dan multiplikasi, menggunakan nutrient dari sel inang, invasi dan timbulnya kerusakan sel, serta toksigenisitas membangkitkan sistem imun tubuh. Bakteri yang merugikan contohnya yakni *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. Menurut Yasir (2015) bakteri menginfeksi manusia melalui beberapa tahapan, yaitu :

1. Melekatnya bakteri pada sel epitel.
2. Terjadinya multiplikasi bakteri, bakteri membentuk mikrokoloni dan mengeluarkan enzim yang dapat menembus epitel.
3. Penyebaran dalam sel tubuh dengan mengeluarkan enzim hyaluronidase yang merusak asam hialuronat dan memecah kolagen.

a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat dan memiliki diameter 0,7 – 1,2 μm . *Staphylococcus aureus* dapat hidup pada suhu 37°C namun terdapat pigmen paling baik jika disimpan pada suhu kamar yakni 20 – 25°C. Bakteri tersebut membentuk koloni berwarna abu-abu, memiliki bentuk bulat, dan berkilau (Jawetz *et al.*, 2008). Tampilan *Staphylococcus aureus* dibawah mikroskop akan mudah terdeteksi dengan bantuan pewarnaan gram, pewarnaan tersebut guna mengetahui jenis dan ciri fisik dari bakteri tersebut. Contoh bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.1

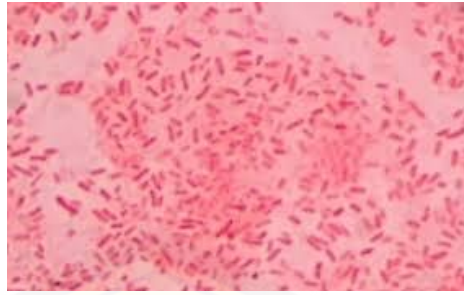


Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Toelle, 2014)

Infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri tersebut yakni ditandai dengan rusaknya jaringan. Beberapa jenis penyakit infeksi yang ditimbulkan adanya *Staphylococcus aureus* yaitu bisul, jerawat, impetigo, dan pneunomia. Hal tersebut karena *Staphylococcus aureus* mampu menghasilkan enterotoksin ketika bakteri ini tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein. Keracunan makanan oleh *Staphylococcus aureus* dapat terjadi jika menelan makanan yang tercemar enterotoksin. Bakteri tersebut juga menjadi penyebab keracunan makanan yang kerap kali ditemukan (Kusuma, 2009). Penelitian yang telah dilakukan oleh Dewi dkk (2018) menyatakan bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) jahe merah menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak 1000 µg/ml, sehingga Konentrasi Hambat Minimumnya (KHM) yang diketahui yakni 10001000 µg/ml. Aktivitas antimikroba dari ekstrak tanaman sangat dipengaruhi oleh jenis dan dosis yang digunakan.

b. *Salmonella thypi*

Salmonella thypi ialah bakteri gram negatif, anaerob fakultatif, dan memiliki sifat motil/bergerak. Bentuk yang dimiliki bakteri tersebut seperti rantai batang pendek. *Salmonella typhi* dapat dibiakkan dengan baik pada suhu optimal 35-37°C, biasanya akan membentuk koloni yang tidak berwarna. Tampilan *Salmonella thypi* dibawah mikroskop akan mudah terdeteksi dengan bantuan pewarnaan gram, pewarnaan tersebut guna mengetahui jenis dan ciri fisik dari bakteri tersebut. Contoh bakteri *Salmonella thypi* dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 *Salmonella thypi* (Amiruddin, 2017)

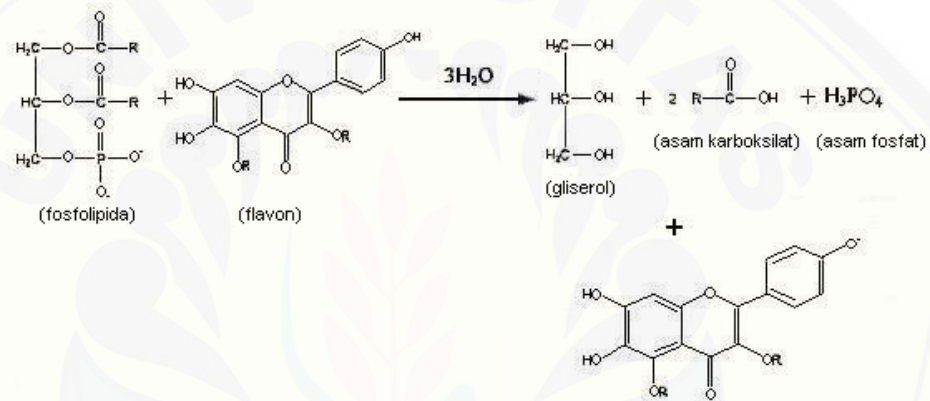
Infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella thypi* disebut dengan salmonellosis, yang dapat menyebabkan penyakit tipus, bahkan dengan jumlah sedikit bakteri ini dapat menyebabkan suatu infeksi. *Salmonella thypi* sangat berbahaya, jika infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini tidak tertangani dengan baik maka dapat mengakibatkan kematian.

2.5 Mekanisme Kerja Flavonoid sebagai Antimikroba

Daun tembakau Kasturi diketahui memiliki kandungan polifenol yang terdiri dari flavonoid dan alkaloid. Keduanya memiliki peran yang sama dalam membunuh mikroba patogen dan mampu mencegah kembalinya bakteri tersebut. Flavonoid merupakan senyawa antibakteri yang memiliki kemampuan merusak beberapa membran sel dan mampu untuk mendenaturasi protein sel bakteri. Flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein dengan adanya ikatan hidrogen sehingga struktur tersier akan terganggu dan protein tidak mampu berfungsi lagi. Sehingga terjadilah kerusakan asam nukleat dan protein. Kerusakan tersebut mengakibatkan terjadinya koagulasi protein serta terganggunya proses metabolisme dan fungsi fisiologis dari bakteri. Cara penghambatan yang dilakukan oleh senyawa flavonoid yakni dengan merusak dinding sel yang tersusun dari lipid dan asam amino yang selanjutnya akan bereaksi dengan gugus alcohol pada senyawa flavonoid (Heni dkk., 2015).

Alkaloid mempunyai mekanisme menghambat dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan yang terdapat pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak berbentuk utuh dan mengakibatkan sel tersebut mati. Adanya senyawa fenol memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein dan polisakarida sehingga dapat menghentikan kerja enzim yang berperan

pada reaksi enzimatik sel bakteri (Heni *et al.*, 2015). Reaksi penguraian fosfolipida menurut Prajitno (2007), padaerusakan membran sitoplasma, terdapat ion H^+ dari fenol dan turunannya seperti flavonoid, akan masuk pada gugus polar/fosfat sehingga molekul fosfolipida terurai menjadi gliserol, asam fosfat, dan karboksilat. Hal tersebut akan berakibat tidak mempunya fosfolipida untuk mempertahankan bentuk membrannya dan terjadi kebocoran kemudian terjadi kebocoran dan terhambatnya pertumbuhan. Fosfolipida dan flavon akan bereaksi dibantu dengan $3H_2O$ akan menghasilkan gliserol dan asam fosfat. Reaksi penguraian dapat dilihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Reaksi penguraian fosfolipida oleh flavon (Prajitno, 2007).

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember. Waktu Pelaksanaan mulai bulan September 2018 hingga bulan Juli 2019.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi *shaker waterbath* (Menmert D-91126, Jerman), *rotary evaporator* (Butchi, Jerman), blender (Miyako, Indonesia), spektrofotometer (Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS, China), pipet mikro (Biohit 12636255, Jerman), *laminar air flow* (Crumair, Spanyol), autoklaf (Hirayama HL 36, Jepang), inkubator (Haraeus Inst B6200, Jerman), *colony counter* (Stuart Scientific), neraca analitik (MATRIX type Esj 210-4B), gelas ukur 500 ml (pyrex, Jerman), cawan petri (Pyrex, Jerman), tabung reaksi (Pyrex, Jerman), spatula, jarum osse, bunsen, eppendorf 2 ml, *blue tip*, *yellow tip*, kertas saring, corong 50 ml, dan lemari pendingin (Toshiba).

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tembakau Kasturi inferior kering dari petani rakyat Kalisat Jember, aquades, metanol, bubuk asam galat murni, media NB (*Nutrient Broth*), media NA (*Nutrient Agar*), bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Salmonella typhi* diperoleh dari Pusat Studi Pangan Universitas Gajah Mada.

Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 96%, etanol pro *analysis*, larutan DPPH, DMSO (Dimethyl Sulfoxide) 2%, reagen *Follin-ciocalteau*, Na_2CO_3 7%, dan spirtus.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang dilakukan dengan menggunakan satu sampel dengan dua faktor yakni perbedaan jenis pelarut ekstraksi (etanol 80% dan air) dan konsentrasi ekstrak daun tembakau Kasturi inferior 20% (0, 0,03, 0,06, 0,12, 0,24, dan 0,48 ml). Pembuatan Konsentrasi pelarut yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3.1 dan 3.2.

Tabel 3.1 Pembuatan pelarut

Perlakuan	Penambahan Pelarut	
	Air	Etanol (80%)
Air 90°C	450 ml	0 ml
Etanol 80%	75 ml	375 ml

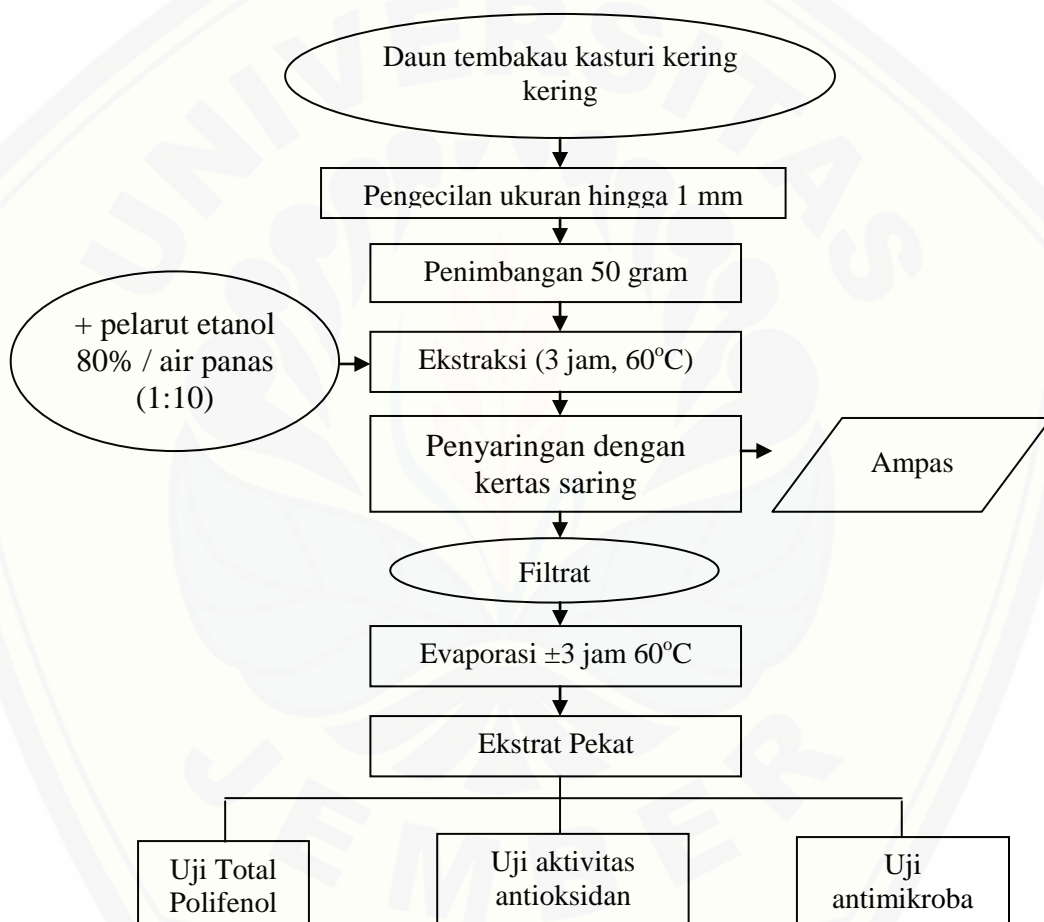
Tabel 3.2 Rancangan pengujian antimikroba ekstrak daun tembakau

Perlakuan	Jenis Mikroba	
	<i>Salmonella thypi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	0	0
Konsentrasi Ekstrak Tembakau Kasturi Inferior 20% (ml)	0,03	0,03
	0,06	0,06
	0,12	0,12
	0,24	0,24
	0,480	0,480
DMSO 2% (µl)	20	20

3.4 Tahapan Penelitian

Sampel yang digunakan yaitu daun tembakau kasturi inferior kering yang berasal dari desa Kalisat Arjasa Kabupaten Jember. Daun tembakau inferior Kasturi yang telah dikumpulkan dilakukan penjemuran tanpa terpapar sinar matahari langsung selama satu minggu. Daun tembakau inferior yang telah kering kemudian dilakukan pengecilan ukuran dengan menggunakan blender. Hal tersebut dilakukan agar luas permukaan lebih besar dan mempermudah proses ekstraksi. Daun yang telah halus kemudian ditimbang sebanyak 50 gram, lalu dimasukkan kedalam erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan etanol 80% atau air panas suhu 90°C sebanyak 450 ml. Setelah tercampur, tahap selanjutnya digojok dengan menggunakan *shaker waterbath* pada suhu 60°C selama tiga jam. Tahap

berikutnya yakni dilakukan proses penyaringan menggunakan corong dan kertas saring bersih guna memisahkan antara filtrat dan ampas. Filtrat yang diperoleh masuk ke tahap evaporasi dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 60°C. Tahap akhir yakni pengujian total polifenol dan antioksidan. Hasil terbaik akan digunakan pada tahap uji antimikroba, dengan menggunakan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. Diagram alir pembuatan ekstrak daun tembakau dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Diagram alir pembuatan ekstrak daun tembakau kasturi inferior (Shekins *et al.*, 2017 dengan modifikasi)

3.5 Prosedur Pengamatan

3.5.1 Uji Total Polifenol

Pada perhitungan kandungan total polifenol ekstrak daun tembakau kasturi digunakan alat spektrofotometer, metode yang digunakan yakni *Follin-ciocalteau*.

Analisa total polifenol ditentukan secara spektrofotometri menggunakan metode *Follin-ciocalteau* (Singelton dan Rossi dalam Othman *et al.*, 2007).

Pembuatan kurva standar untuk perhitungan kadar polifenol dibuat dengan cara menggunakan larutan asam galat dalam metanol (5,4 mg *galid acid* / 5 ml). Mula-mula bubuk asam galat ditimbang sebanyak 5,4 mg dan dimasukkan ke dalam metanol sebanyak 5 ml, digojok hingga homogen. Larutan asam galat tersebut ditera dalam labu ukur 10 ml dan ditera hingga tanda batas menggunakan pelarut metanol. Cuplik larutan tersebut sebanyak 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, dan 200 μ l pada masing-masing tabung reaksi dan ditambahkan dengan aquades sesuai hingga larutan berjumlah 400 μ l. Tambahkan 0,8 ml Follin 10% dan aquades sebanyak 5 ml, vorteks agar larutan homogen. Diamkan larutan tersebut selama 5 menit dan tambahkan dengan 0,8 ml Na_2CO_3 7%, kemudian tutup tabung reaksi menggunakan *aluminium foil* dan diamkan selama 60 menit ditempat gelap. Perhitungan absorbansi kurva standart menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 765 nm.

Pada penelitian ini sampel yang diuji berbentuk cairan. Sebanyak 0,4 ml sampel ekstrak tembakau (sudah diencerkan 10/200 ; 10/300 ; 10/400 ; 10/500), ditambahkan 0,8 ml reagen *Follin-ciocalteau* 10%, gojok hingga homogen menggunakan vorteks dan diamkan selama 5 menit. Selanjutnya tambahkan 0,8 ml larutan Na_2CO_3 7% lalu divortex dan diamkan selama 60 menit dengan cara ditutup semua lapisan tabung reaksi menggunakan *aluminium foil*. Lakukan pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 765 nm. Analisa kandungan total polifenol pada sampel dihitung berdasarkan kurva standar asam galat yang diperoleh. Nilai absorbansi (y) dimasukkan pada persamaan kurva standar asam galat, sehingga diperoleh nilai (x) dan dikali faktor pengenceran.

3.5.2 Uji Antioksidan Metode DPPH

Pada pengujian antioksidan, metode yang digunakan merupakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-1-2-Picrylhidroksil*) dengan menggunakan bantuan alat spektrofotometer. Alat tersebut bekerja dengan prinsip cahaya monokromatik melalui larutan yang diuji dalam sebuah kuvet kaca/plastik bening. Sebagian cahaya tersebut diserap (I), sebagian dipantulkan (Ir), dan sebagian lagi diteruskan

(It). Penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum dengan senyawa kompleks sesuai dengan unsur yang akan dilakukan analisis (Fatimah dan Yanlinastuti, 2016).

Cara membuat larutan yang akan diuji antioksidannya yakni membuat larutan DPPH dengan menyiapkan serbuk DPPH 0,0039432 gram dan dilarutkan dengan etanol *pro analysis* pada labu ukur 25 ml, dan ditera hingga tanda batas hingga didapatkan larutan DPPH dengan konsentrasi 0,4 mM. Tahap selanjutnya yakni membuat bahan uji dengan ekstrak tembakau 0,1 ml diencerkan menggunakan aquades hingga 1 ml dalam ependorf. Cuplik larutan ekstrak tersebut sebanyak 0,1 ml dan masukkan kedalam tabung reaksi, ditambah dengan 3,9 ml etanol dan 1 ml DPPH. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan vorteks dan bungkus tabung reaksi menggunakan *aluminium foil*, simpan dalam kondisi gelap selama 30 menit. Tahap berikuutnya yaitu mengukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Blanko yang diuji dapat menggunakan aquades.

Rumus perhitungan antioksidan :

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

3.5.3 Penentuan KHM

Cara dilusi agar yang digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimal dengan membuat mikroba uji dalam media NA yang telah ditambahkan ekstrak tembakau Kasturi. Sebelumnya ampul biakan murni mikroba dipecahkan menggunakan tang besi, ampul tersebut berisi biakan bakteri murni yang disimpan dalam kondisi kering sehingga mampu menjamin kemurnian bakteri yang digunakan. Ampul diisi dengan media NB yang berfungsi sebagai pelarut bakteri agar mudah dipindahkan pada media padat. NB pada ampul diambil dan dipindahkan pada tabung reaksi sebagai stok kultur murni sehingga dapat digunakan pada tahap berikutnya.

Peremajaan bakteri dari media NB dengan cara memijarkan jarum ose dan diamkan hingga sedikit mendingin. Celupkan jarum ose pada NB berisi biakan

mikroba dan gores jarum ose pada NA miring. Inkubasi selama 24 jam pada inkubator menggunakan suhu 37°C hingga bakteri tumbuh.

Proses pembuatan suspensi mikroba dengan tahap pengenceran terlebih dahulu biakan kultur mikroba pada eppendorf 1 ml dengan pengenceran 10^{-1} – 10^{-7} , hingga didapatkan berkisar 30-300 koloni/ml. Ambil sebanyak 200 μ l kultur bakteri, dimasukkan ke dalam cawan petri dan ditambah media NA sesuai dengan konsentrasi ekstrak daun tembakau kasturi. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung koloni yang tumbuh pada media dengan bantuan *colony counter* (Mubarak *et al.*, 2016).

Pada penentuan KHM terdapat beberapa tahap yang dilakukan, meliputi :

- sterilisasi alat dan bahan
- pembuatan larutan uji
- pembuatan media NA
- pembuatan media NB
- peremajaan bakteri uji
- pembuatan suspensi media.

a. sterilisasi alat dan bahan

Alat yang akan digunakan seperti tabung reaksi, eppendorf, *yellow tip* dan *blue tip* harus melalui proses sterilisasi terlebih dahulu. Berbagai alat tersebut disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C (Deby dkk., 2012). Hal tersebut guna mencegah timbulnya kontaminasi saat sebelum pemakaian. Namun, untuk jarum ose yang akan digunakan dibakar terlebih dahulu dengan bunsen hingga pijar, setelah mendingin dapat digunakan. Hal tersebut dilakukan untuk memperkecil kemungkinan adanya kontaminasi bakteri dari berbagai alat dan agar mikroba tidak mati saat dilakukan penggoresan.

b. pembuatan larutan uji

Mula-mula yakni dengan membuat larutan stok dengan konsentrasi 20%, dengan cara mengambil ekstrak pekat daun tembakau sebanyak 2 ml lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan tambahkan aquades steril hingga tanda batas. Larutan stok yang telah dibuat kemudian diambil secara berurutan sebanyak 0, 30, 60, 120, 240, dan 480 μ l.

c. pembuatan media NA (Jauhari, 2010)

Media NA bubuk sebanyak 4 gram dilarutkan menggunakan 200 ml aquadest dalam *beaker glass* 250 ml. Media tersebut dipanaskan menggunakan *magnetik stirer* untuk mempercepat larutnya bubuk NA. Larutan media perlu dilakukan sterilisasi dalam autoklaf dalam kurun waktu 15 menit pada suhu 121°C. Untuk mencegah rusaknya media saat penyimpanan, media NA disimpan dalam lemari es.

Media NA miring dapat dibuat dengan cara mengambil stok larutan NA yang belum disterilisasi dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 ml. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tabung reaksi berisi larutan NA yang telah steril diposisikan pada sudut kemiringan 15° dan biarkan media memadat (Rustanti, 2007).

d. pembuatan media NB (Jauhari, 2010)

Media NB bubuk sebanyak 6,5 gram dimasukkan ke dalam *beaker glass* 1000 ml, kemudian tambahkan dengan aquadest sebanyak 500 ml. Campur dan panaskan larutan tersebut menggunakan *magnetic stirer* guna menghomogenkan larutan media. Tahap selanjutnya media dilakukan sterilisasi dalam autoklaf dalam kurun waktu 15 menit pada suhu 121°C. Untuk mencegah rusaknya media saat proses penyimpanan, media dapat disimpan dalam lemari pendingin.

e. peremajaan bakteri uji (Jauhari, 2010)

Mikroba murni yang akan digunakan perlu dilakukan peremajaan, hal tersebut guna mendapatkan kualitas mikroba yang baik. Bakteri tersebut diinokulasikan ke dalam media NA miring sebanyak satu ose dan dilanjutkan dengan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Peremajaan bakteri uji harus dilakukan dalam *laminar air flow* untuk meminimalisir adanya kontaminasi dengan mikroba yang tidak diharapkan.

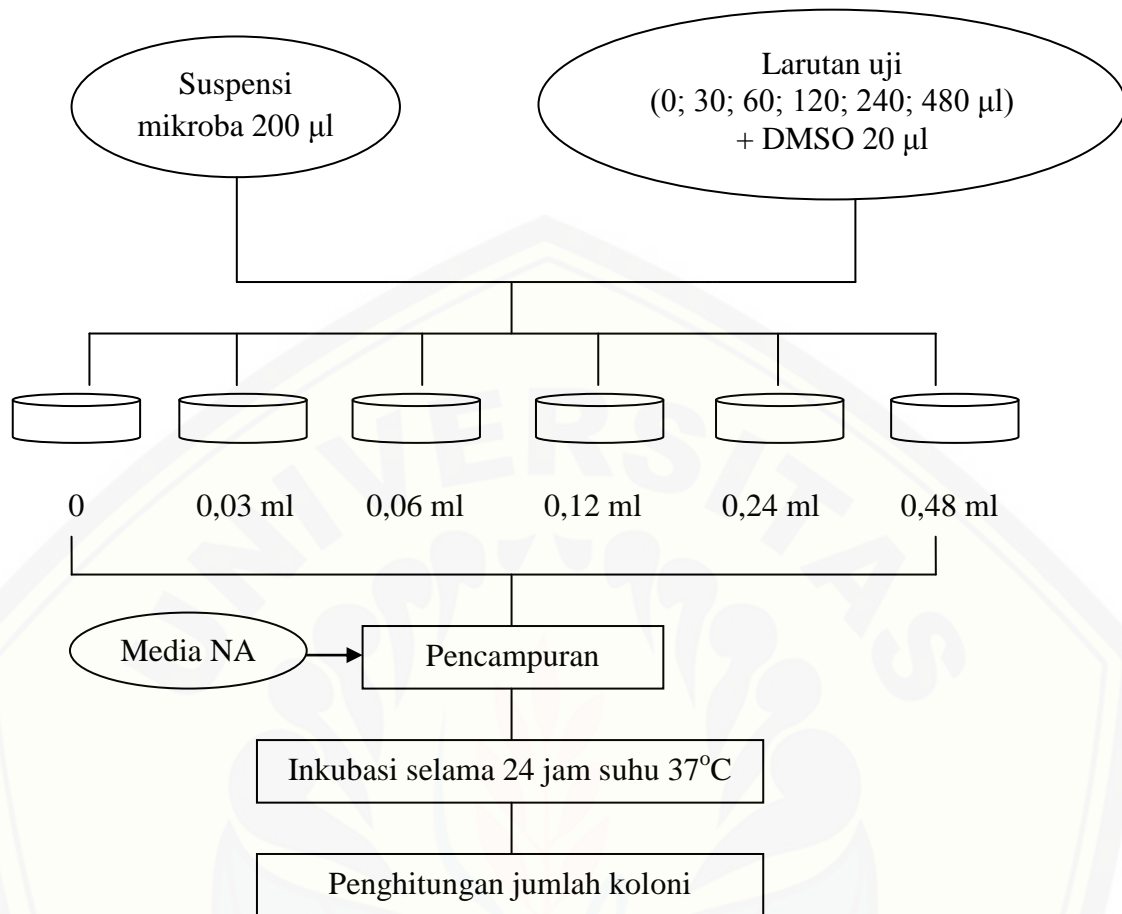
Langkah preparasi isolat bakteri dibutuhkan satu ose kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. Ose tersebut dioleskan pada media miring NA dan gores secara zig-zag, setelah dilakukan penggoresan inkubasi media dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Proses inkubasi dilakukan

secara aseptis didalam laminer untuk meminimalisir kontaminasi yang diakibatkan oleh kapang maupun jamur.

f. pembuatan suspensi

Sebanyak satu ose bakteri (*Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*) dari stok kultur agar miring NA dicuplik menggunakan ose steril, dan dimasukkan ke dalam eppendorf berisi 1 ml aquades steril. Suspensi tersebut dihomogenkan menggunakan vorteks lalu dicuplik sebanyak 0,1 ml disuspensikan kedalam eppendorf yang berisi aquades steril 0,9 ml. Selanjutnya, dilakukan pengenceran hingga 10^{-5} yang akan digunakan dalam pengujian antibakteri.

Penentuan uji aktivitas antibakteri daun tembakau Kasturi dilakukan untuk menentukan KHM dan nilai IC_{50} pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi* menggunakan metode dilusi agar. Mula-mula disiapkan 200 μ l suspensi bakteri yang telah diencerkan hingga 10^{-5} dan larutan uji dengan berbagai konsentrasi (b.) dimasukkan kedalam cawan petri lalu ditambahkan media NA yang masih hangat (cair) berurut-urut ke masing-masing cawan petri sebanyak 4,780; 4,750; 4,720; 4,660; 4,540; dan 4,300 ml, kemudian diratakan dan diamankan hingga memadat lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni pada cawan petri menggunakan *colony counter*. Diagram alir penentuan respon penghambat (KHM) dan IC_{50} dapat lihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Penentuan Respon Penghambatan (KHM) dan IC_{50}

3.6 Analisa Data

Data asam galat, kadar polifenol, kadar antioksidan, dan aktivitas antibakteri dianalisis menggunakan Microsoft Excel 2007 kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data penelitian hasil identifikasi bakteri disajikan dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dianalisis secara deskriptif.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

- a. Senyawa pada ekstrak daun tembakau kasturi inferior yakni senyawa fenolik berupa polifenol. Kandungan total polifenol yang terkandung dalam ekstrak daun tembakau dengan pelarut etanol 80% lebih besar dengan nilai 50,603 mgGAE/ml dan ekstrak daun tembakau pelarut air 90°C dengan nilai 49,287 mgGAE/ml. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan ekstrak daun tembakau kasturi dengan pelarut etanol 80% mendapatkan nilai lebih besar dibandingkan dengan pelarut air 90°C dengan nilai yaitu 64,05 mg/ml dan 48,90 mg/ml.
- b. Ekstrak daun tembakau kasturi inferior terbukti memiliki sifat antibakteri dengan menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*, nilai KHM dengan pelarut etanol 80% yang diperoleh sebesar 2,072 mg/ml dan 0,611 mg/ml, nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar 0,342 mg/ml dan 0,003 mg/ml, sedangkan ekstrak dengan pelarut air 90°C nilai KHM yang diperoleh sebesar 2,158 mg/ml dan 0,712 mg/ml, nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar 0,351 mg/ml dan 0,147 mg/ml.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian, perlu dilakukan tentang efek antibakteri ekstrak terhadap bakteri *Bacillus anthracis* dan mengaplikasikan kedalam produk hand sanitizer. Efek antibakteri dapat diujikan pula pada produk abate guna memberantas penyebab *Aeds Aegypty*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhayanti, I., Abdullah, T., Romantika, R. 2018. Uji Kandungan Polifenol dan Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*). *Jurnal Farmasi*. Vol 14(1). Makassar : Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes
- Alegantina, S. 2017. Penetapan Kadar Nikotin dan Karakteristik Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L .) Determination of Nicotine Levels in Tobacco Leaves and Characteristics of Tobacco Leaves Extract (*Nicotiana tabacum* L .).*Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan*. Vol 1(2) Halaman 112–119.
- Amirrudin, R.R., dan Ismail, Darniati. 2017. Isolasi Dan Identifikasi *Salmonella* Sp Pada Ayam Bakar Di Rumah Makan Kecamatan Syiah Kuala Kota Banda Aceh. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Jimvet 01(03): 265-274. Aceh : Universitas Syiah Kuala
- Ansari. M.H. Rahbar, Z.A. Bhutta, Badruddin. 2006. Child’s gender and household food insecurity are associated with stunting among young Pakistani children residing in urban squatter settlements. *Food and Nutrition Bulletin*. 27(02): 112-127.
- Ardwiantoro, A. 2011. Metabolit Sekunder. *Makalah*. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember. Kabupaten Jember dalam Angka 2018. *Katalog*. ISSN : 0215.5523 No.1102001.3509. Jember : BPS Kabupaten Jember
- Badan Standarisasi Nasional. 1996. *SNI 01-4440-1996 Tembakau Kasturi*. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional
- Balai Besar Pengawas Obat Dan Makanan Surabaya. 2018. *Laporan Tahunan Tahun 2018*. Surabaya : BBPOM Surabaya
- Berlian, Zinal., Fitratul Aini., Weni Lestari. 2016. Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap Fungi *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Jurnal Biota*. 02(1) : 99 – 105.
- Blainski, A., Lopes, G.C., Mello, C.P. 2013. Application and Analysis of The Follin-ciocalteu Method for The Determination of The Total Phenolic Content from limonium Brasiliense L. *Journal Molecules*. 18 : 6852-6865

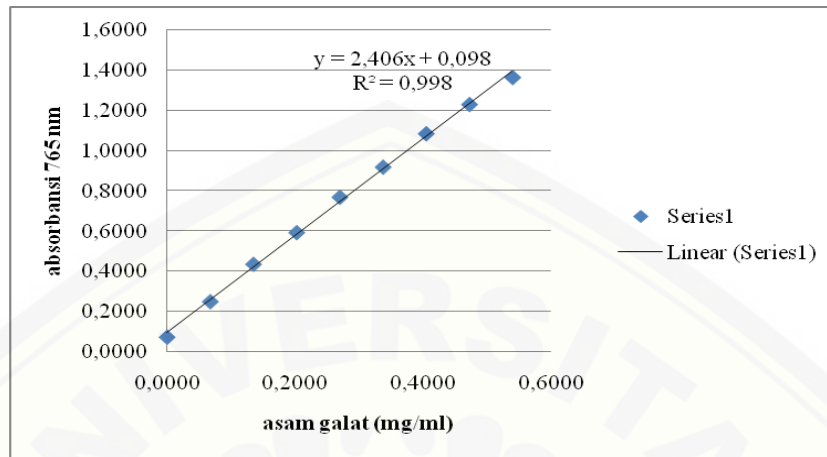
- Dewi, F.I., Wahyunitisari, M.R. 2018. Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Jahe Merah (*Zinger Officinale Var Rubrum*) terhadap Pertumbuhan Kuman *Staphylococcus aureus*. *Journal of Vocational Studies*. 03(1) : 113-116
- Duangstri P, Juntarapun K, Sathirapipathkul C. 2012. The Tobacco Leaf Extract and Antibacterial Activity in Textile. *RMUTP International Conference:Textiles & Fashion 2012 July 3-4*. Bangkok Thailand.
- Fathiazad, F., Delazae, A., Amiri, R., Sarker S. D. 2005. Extraction of Flavonoids and Quantification of Rutin from waste Tobacco leaf. *IJPR*, 3(1) : 222-227
- Heni., Arreneuz S., Zaharah T., 2015. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea Angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *JKK*. ISSN 2303-1077. 4(1) : 84-90 Pontianak
- Hidayah, N., Hisan, A., Solikin, A., Irawati, Mustikaningtyas, D. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Sargassum muticum Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students 1*. 01 : 1-9 Semarang.
- Jauhari, Lendra Tantowi. 2010. Seleksi dan Identifikasi Kapang Endofit Penghasil Antimikroba Penghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen. *Skripsi*. Jakarta : Universitas Syarif Hidayatullah
- Jawetz., Melnick E., Joseph A., Adelberg, Edward. 2008. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi16. Jakarta : CV. EGC (Diterjemahkan oleh Dr. H. Tonang).
- Jupriyadi, L. 2011. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Waru (*Hibicustilaceus L.*) terhadap Jamur *Malassezia furfur*. *Skripsi*. Malang : Program Studi Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Lebih dari 200 Penyakit dapat menular Melalui Makanan Keamanan Pangan Harus Diperhatikan. [http : depkes.go.id/article/view](http://depkes.go.id/article/view) (diakses tanggal 28 Januari 2019).
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2017. *Statistik Pertanian 2017*. Jakarta : Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian ISBN : 979-8958-65-9
- Kusuma, Sri A. F. 2009. Makalah *Staphylococcus aureus*. *Makalah*. Bandung : Universitas Padjajaran.
- Lee, K.I., Kim, Y.J., Lee, H.J., and Lee, C.H. 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemical and Higher Antioxidant Capacity than Theas and Red Wine. *Journal Agriculture Food Chem*.1 (51) : 7292-7295.

- Lestari, Y., Ardiningsih, P., Nurlina. 2016. Aktivita Antibakteri Gram Positif dan Grm Negatif dari Ekstrak dn Fraksi Daun Nipah (*Nyp fruticans* Wurmb.) sal Pesisir Sungai Kakap Kalimantan Barat. *Jurnal KK*. 05(04) : 1-8
- Miranda, N.T.C., Jalu, I.O., Machado, A.N., Paschoal, S.M.P., Jacob, F.W., 2009. Quality of life and multimorbidity of elderly outpatients. *Journal Clinics*. 64(1) : 45-50.
- Mubarak, Z., Chismirina, S., Daulay, Hafizah H. 2016. Aktivits Antibakteri Ekstrak Propolis Alami dari Sarang Lebah terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Journal*. E-ISSN : 2302-0412
- Mulyani, S., Ardiningsih, P., Jayuska, A. 2016. Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*). *Jurnal KK*. 5(1) : 36-43.
- Najihudin, A., Chaerunisaa, A., Subarnas, Anas. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Trengguli (*Cassia Fistula L.*) dengan Metode DPPH. *Jurnal IJPST*. 04 (02).
- Neswati dan Ismanto, S.D., 2018. Ekstraksi Komponen Bioaktif Serbuk Kayu Secang (*Caesalpinia sappan,L*) Dengan Metode Ultrasonikasi. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. Vol.22 (02).
- Nismawati., Sjahril, R., Rosmana. 2018. Deteksi Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Pada Pasien Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Dengan Metode Kultur. *Prosiding Seminar Nasional Megabiodiversitas Indonesia ISBN: 978-602-72245-3-7*. Gowa : Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Othman, A., Ismail, A., Ghani, N.A., Adenan, I. 2007. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans. *Journal Food Chem* 100, 1523-1530
- Peng, F., Sheng L, Liu B, Tong H, Liu S. 2004. Comparison of Different Extraction Methods: Steam Distillation, Simlutaneous Distillation and Extraction and Headspace Co-distillation, Used for the Analysis of the Volatile Components in Aged Flue Cured Tobacco Leaves. *J Chromatogr. A* 1040:1-17.
- Ploelongan, M., Chairul, Komala, I., Salmah, S., Susan, M.N. 2006. *Aktivitas Antimikroba Dan Fitokimia Dari Beberapa Tanaman Obat*. Bogor : Fakultas Peternakan IPB.
- Prajitno, Arief. 2007. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Protein*. 15(02). Malang : Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

- Pramono, A., Fauzantoro, A., Hidayati, Irma Rizki. 2017. In Vitro Assay of Ethanolic Heat Reflux Extract of *Nicotiana tabacum L.* Var Virginia Against Nosocomial Bacteria Pathogen. *Journal of Physics*. Depok : Faculty of Engineering
- Prayoga, G. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis Lour*). *Skripsi*. Depok : Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia.
- Puspita, A.D., Proyogo, L.S. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi terhadap Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*. 13(02) : .
- Putra, K., Setyowati, E., Susilorini, T.E. 2016. Inhibition Of Malus Sylvestris Mill. Peelextract Using Etanol Solvent On The Growth Of Streptococcus Agalactiae And Escherichia Coli Causing Mastitis. *Jurnal Ternak Tropika*. Vol 17 No.1 : 77-85. Malang : Faculty Animal Husbandry
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Rodgman, A. and T.A. Perfetti. 2006. The Composition of Cigarette Smoke. *Acatalogue of the polycyclic hydrocarbons*. *Journal*. Beiträge zur Tabak for chung 22(1):13-69.
- Rustanti, Mirna. 2007. Isolasi dan Seleksi Kapang Endofit Penghasil Antimikroba pada Akar Tanaman Sesoot (*Garcinia picrorrhiza Miq.*). *Skripsi*. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok
- Savira, Annindya Ayu. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum l.*) Terhadap *Bacillus subtilis* Dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Jember : Fakultas Teknologi Pertanian UJ
- Saxena, D.K., Sharma, S.K., Shambi, S.S. 2011. Comparative extraction of cottonseed oil by n-hexane and etanol. *Journal of Engineering and Applied Science*. Vol 6(1), 84-89
- Sayuti, Mohammad. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Bagian dan Jenis Pelarut terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis hippuris*). *Journal Technology Science and Engineering*. Vol (1) No.3 ISSN : 2549-1601
- Septiana, A.T., Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *J. Agointek*. Vol 6 (1), 22-28

- Shekins, O., Dorathy E., Labaran, M., Joel P. 2016. Phytochemical screening of tobacco(*Nicotianatabacum*) and its effects on somehaematological parameters and histopathologyof liver and brain in male rats. *Int J Biochem. Res Rev.* 2016;14(4):1–9.
- Soehendro A.W., Manuhara G.J., Nurhartadi, E. 2015. Pengaruh suhu terhadap aktivitas antioksidan dan antimikroba ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) dengan pelarut etanol dan air. *J Teknosains Pangan.* VI 4(4):15-24
- Susilowati, E. Y. 2006. Identifikasi Nikotin dari Daun Tembakau Kering (*Nicotiana tabacum*) dan Uji Efektivitas Ekstrak Daun Tembakau sebagai Pestisida Penggerek Batang Padi (*Scirpophaga innonata*). *Skripsi.Kimia FMIPA UNS: Semarang*
- Taiga, A., dan Friday, E. 2009. Variation in Phytochemical Properties of Selected Fungicidal Aqueous Extracts of Some Plant Leaves in Kogi State, Nigeria. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agricultural*, 3 (3): 407-409. Vol. 64 No. 1:45-50.
- Tarigan, L.A., Desrina, Sarjito. 2017. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana Tabacum*) Terhadap Kelulushidupan Dan Hisotpatologi Hati Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. Semarang : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
- Toelle, N.N, dan Lenda, V.2014. Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari Infeksi Ovarium pada Ayam Petelur Komersial (*Identification and Characteristics of Staphylococcus Sp. and StreptococcusSp. Infection of Ovary in Commercial Layers*).*Jurnal VOL. 1, NO. 7, 32 – 37.* Kupang : Politeknik Pertanian Negeri Kupang.
- Widoyono. 2011. *Penyakit Tropis*. Jakarta: Erlangga.
- Wijayanti, R., dan Abdul, R., 2015, Efek Ekstrak Kulit Umbi Bawang Putih (*Allium Sativum L.*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan, *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik Vol. 12(1)*.
- Yanlinastuti., Dian, A., Fatimah, S., Yusuf, N. 2011. Penentuan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis dengan Pengompleks Arsenazo III. *Seminar Nasional SDM Teknologi Nuklir VII.* Yogyakarta.
- Yasir, Yadi. 2015. Bakteri dan Kesehatan Manusia. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan* ISBN 978-602-72245-0-6. Makassar : Universitas Mulawarman.

Lampiran 4.1. perhitungan total polifenol ekstrak daun tembakau
Kurva standart Asam Galat



Asam Galat (mg/ml)	Absorbansi
0,0000	0,0735
0,0675	0,2505
0,1350	0,4365
0,2024	0,5940
0,2699	0,7705
0,3374	0,9200
0,4049	1,0865
0,4724	1,2320
0,5398	1,3665

Total Polifenol Ekstrak Daun Tembakau (Etanol)

Pengenceran (kali)	Ulangan	Absorbansi	Asam Galat (mg/ml)	Asam Galat (mg/ml) KONSENTRAT	Rerata Asam Galat (mg/ml)	Rerata
200x	U1	0,462	0,17342	34,6847	34,7598	
		0,464	0,17417	34,8348		
	U2	0,588	0,22072	44,1441	44,1817	41,6917
		0,589	0,22110	44,2192		
	U3	0,614	0,23048	46,0961	46,1336	
		0,615	0,23086	46,1712		
300x	U1	0,367	0,13776	41,3288	41,3851	
		0,368	0,13814	41,4414		
	U2	0,469	0,17605	52,8153	52,8716	49,0240
		0,470	0,17643	52,9279		
	U3	0,469	0,17605	52,8153	52,8153	
		0,469	0,17605	52,8153		
400x	U1	0,336	0,12613	50,4505	50,6006	
		0,338	0,12688	50,7508		
	U2	0,377	0,14152	56,6066	56,6066	55,6557
		0,377	0,14152	56,6066		
	U3	0,397	0,14902	59,6096	59,7598	
		0,399	0,14977	59,9099		
500x	U1	0,322	0,12087	60,4354	60,0601	
		0,318	0,11937	59,6847		
	U2	0,332	0,12462	62,3123	62,4062	64,1579
		0,333	0,12500	62,5000		
	U3	0,373	0,14002	70,0075	70,0075	
		0,373	0,14002	70,0075		

Total Polifenol Kasturi (Air panas)

Pengenceran (kali)	Ulangan	Absorbansi	Asam Galat (mg/ml)	Asam Galat (mg/ml) KONSENTRAT	Rerata Asam Galat (mg/ml)	Rerata
200x	U1	0,580	0,21772	43,5435	43,5060	
		0,579	0,21734	43,4685		
	U2	0,654	0,24550	49,0991	49,8874	43,7312
		0,675	0,25338	50,6757		
	U3	0,504	0,18919	37,8378	37,8003	
		0,503	0,18881	37,7628		
300x	U1	0,482	0,18093	54,2793	54,3919	
		0,484	0,18168	54,5045		
	U2	0,503	0,18881	56,6441	56,8131	51,6892
		0,506	0,18994	56,9820		
	U3	0,389	0,14602	43,8063	43,8626	
		0,390	0,14640	43,9189		
400x	U1	0,413	0,15503	62,0120	61,5616	
		0,407	0,15278	61,1111		
	U2	0,435	0,16329	65,3153	65,0901	58,8338
		0,432	0,16216	64,8649		
	U3	0,331	0,12425	49,6997	49,8498	
		0,333	0,12500	50,0000		
500x	U1	0,347	0,13026	65,1276	65,3153	
		0,349	0,13101	65,5030		
	U2	0,375	0,14077	70,3829	70,7583	62,9692
		0,379	0,14227	71,1336		
	U3	0,282	0,10586	52,9279	52,8341	
		0,281	0,10548	52,7402		

Diagram Total polifenol

Konsentrasi Ekstrak	Asam Galat	Rata-rata	Rata-rata	SD
46,48215102	0,0930	46,0666	50,6033	5,756824652
45,65099946	0,0913			
48,56002992	0,0971	48,6639		
48,76781781	0,0975			
57,07933342	0,1142	57,0793		
57,07933342	0,1142			
51,67684827	0,1034	51,8846	49,2873	10,17365244
52,09242405	0,1042			
57,4949092	0,1150	57,9105		
58,32606076	0,1167			
38,17063542	0,0763	38,0667		
37,96284753	0,0759			

Lampiran 4.2 Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak tembakau (etanol)

konsentrasi	Ulangan	Blanko	Absorbansi	% Penghambatan	Rata-rata	Rata-rata
50x	U1	0,782	0,221	71,739	71,803	71,47
		0,782	0,22	71,867		
	U2	0,773	0,229	70,375	70,440	
		0,773	0,228	70,505		
	U3	0,785	0,218	72,229	72,166	
		0,785	0,219	72,102		
100x	U1	0,782	0,458	41,432	41,752	45,902
		0,782	0,453	42,072		
	U2	0,773	0,434	43,855	43,661	
		0,773	0,437	43,467		
	U3	0,785	0,375	52,229	52,293	
		0,785	0,374	52,357		
150x	U1	0,782	0,523	33,120	33,248	33,526
		0,782	0,521	33,376		
	U2	0,773	0,545	29,495	29,495	
		0,773	0,545	29,495		
	U3	0,785	0,488	37,834	37,834	
		0,785	0,488	37,834		

Aktivitas antioksidan tembakau (air)

konsentrasi	Ulangan	Blanko	Absorbansi	% Penghambatan	Rata-rata	Rata-rata
50x	U1	0,818	0,386	52,812	52,567	54,06
		0,818	0,39	52,323		
	U2	0,83	0,359	56,747	56,566	
		0,83	0,362	56,386		
	U3	0,789	0,37	53,105	53,042	
		0,789	0,371	52,978		
100x	U1	0,818	0,534	34,719	34,780	36,798
		0,818	0,533	34,841		
	U2	0,83	0,488	41,205	41,205	
		0,83	0,488	41,205		
	U3	0,789	0,518	34,347	34,411	
		0,789	0,517	34,474		
150x	U1	0,818	0,598	26,895	26,711	28,878
		0,818	0,601	26,528		
	U2	0,83	0,553	33,373	33,434	
		0,83	0,552	33,494		
	U3	0,789	0,58	26,489	26,489	
		0,789	0,58	26,489		

Jenis pelarut	konsentrasi	Ulangan	Blanko	Absorbansi	% Penghambatan	Rata-rata	Rata-rata
Etanol 80%	50x	U1	0,782	0,221	71,7391	71,8031	64,0507
			0,782	0,22	71,8670		
		U2	0,773	0,434	43,8551	43,6611	
			0,773	0,437	43,4670		
		U3	0,785	0,183	76,6879	76,6879	
			0,785	0,183	76,6879		
Air	50x	U1	0,818	0,386	52,8117	52,5672	48,9042
			0,818	0,39	52,3227		
		U2	0,83	0,359	56,7470	56,5663	
			0,83	0,362	56,3855		
		U3	0,789	0,494	37,3891	37,5792	
			0,789	0,491	37,7693		

4.3 Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Daun Tembakau Untuk Uji KHM

Formulasi uji KHM

Ekstrak (ml)	kons. Ekstak etanol (mg/ml)	kons. Eksrak air (mg/ml)	vol. total (ml)	Konsentrasi polifenol dlm capet (V1.M1= V2.M2)	
				etanol (mg/ml)	air (mg/ml)
0	10,1207	9,857457507	5	0,0000	0,0000
0,03	10,1207	9,857457507	5	0,0607	0,0591
0,06	10,1207	9,857457507	5	0,1214	0,1183
0,12	10,1207	9,857457507	5	0,2429	0,2366
0,24	10,1207	9,857457507	5	0,4858	0,4732
0,48	10,1207	9,857457507	5	0,9716	0,9463

Data Total Polifenol			
Etanol	M1	50,6033	mg GAE/ml
Air	M1	49,2873	mg GAE/ml

Tabel volume total dalam capet

<i>S. thypi</i>				
Ekstrak (µl)	DMSO 2% (µl)	m.o (µl)	MEDIA (µl)	Total Dalam Capet
0	20	200	4780	5000
30	20	200	4750	5000
60	20	200	4720	5000
120	20	200	4660	5000
240	20	200	4540	5000
480	20	200	4300	5000

<i>S. aureus</i>				
Ekstrak (µl)	DMSO 2% (µl)	m.o (µl)	MEDIA (µl)	Total dalam Capet
0	20	200	4780	5000
30	20	200	4750	5000
60	20	200	4720	5000
120	20	200	4660	5000
240	20	200	4540	5000
480	20	200	4300	5000

Larutan stok etanol 20%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$2 \text{ ml} \times 50,6033 \text{ mg/ml} = 10 \text{ ml} \times M2$$

$$M2 = (2 \text{ ml} \times 50,6033 \text{ mg/ml}) / 10 \text{ ml}$$

$$M2 = 10,1207 \text{ mg/ml}$$

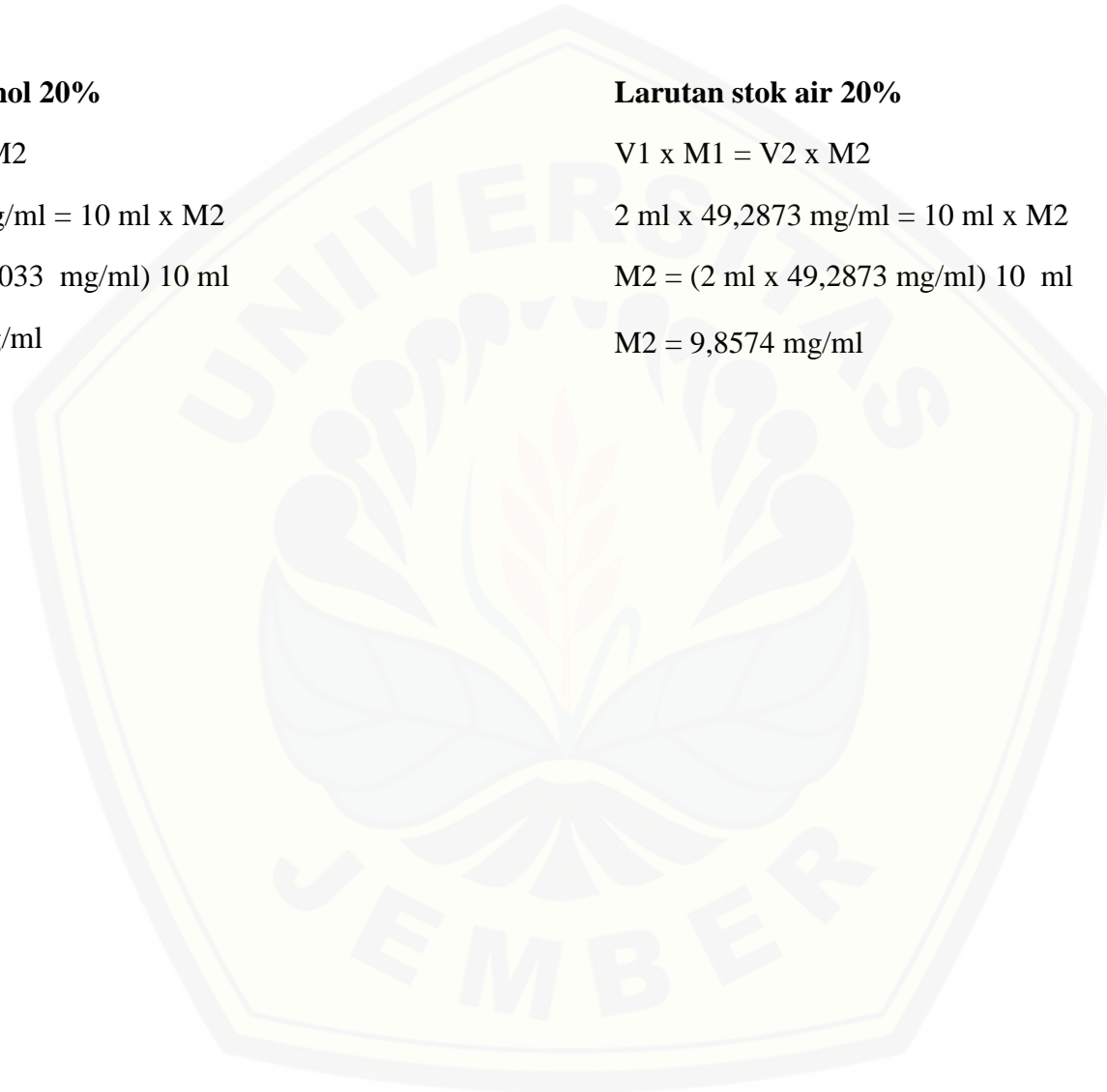
Larutan stok air 20%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$2 \text{ ml} \times 49,2873 \text{ mg/ml} = 10 \text{ ml} \times M2$$

$$M2 = (2 \text{ ml} \times 49,2873 \text{ mg/ml}) / 10 \text{ ml}$$

$$M2 = 9,8574 \text{ mg/ml}$$



Lampiran 4.4 Perhitungan aktivitas antibakteriTabel jumlah koloni *Salmonella thypi* (etanol)

ekstrak (ml)	Konsentrasi (mg/ml)	Jumlah koloni 10 ⁵		Rata-rata	SD
		U1	U2		
0	0,000	20	13	16,5	4,95
0,03	0,061	17	13	15	2,83
0,06	0,121	13	11	12	1,41
0,12	0,243	12	6	9	4,24
0,24	0,486	9	6	7,5	2,12
0,48	0,972	2	5	3,5	2,12

Tabel jumlah %hambat dan koloni *Salmonella thypi* (etanol)

Data MIC S.thypi pelarut etanol dalam CFU/ml (10⁵)							
ekstrak (ml)	Konsentrasi (mg/ml)	Jumlah Koloni/200 μ l		Rata-rata	SD	% penghambatan	Log Koloni
		U1	U2				
0	0,00	1000000	650000	825000	2474873,734	0	6,92
0,03	0,06	850000	650000	750000	1414213,562	9,1	6,88
0,06	0,12	650000	550000	600000	707106,7812	27,3	6,78
0,12	0,24	600000	300000	450000	2121320,344	45,5	6,65
0,24	0,49	450000	300000	375000	1060660,172	54,5	6,57
0,48	0,97	100000	250000	175000	1060660,172	78,8	6,14

Tabel jumlah koloni *Salmonella thypi* (air)

ekstrak (ml)	Konsentrasi (mg/ml)	Jumlah koloni 10 ⁵		Rata-rata	SD
		U1	U2		
0	0,000	28	36	32	5,66
0,03	0,059	25	26	25,5	0,71
0,06	0,118	23	24	23,5	0,71
0,12	0,237	19	21	20	1,41
0,24	0,473	18	15	16,5	2,12
0,48	0,946	5	7	6	1,41

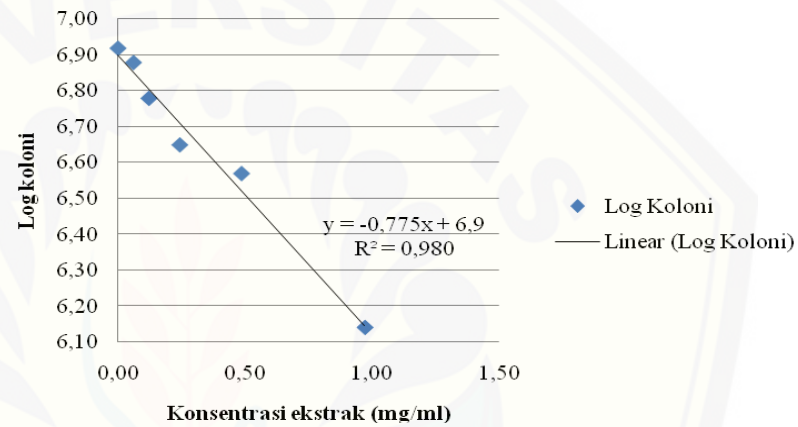
Tabel jumlah %hambat dan koloni *Salmonella thypi*

Data MIC <i>S.thypi</i> pelarut air dalam CFU/ml (10 ⁵)							
ekstrak (ml)	Konsentrasi (mg/ml)	Jumlah Koloni/200 μ l		Rata-rata	SD	% penghambatan	Log Koloni
		U1	U2				
0	0,00	14000000	18000000	16000000	2828427,125	0	7,20
0,03	0,06	12500000	13000000	12750000	353553,3906	20,3	7,11
0,06	0,12	11500000	12000000	11750000	353553,3906	26,6	7,07
0,12	0,24	9500000	10500000	10000000	707106,7812	37,5	7,00
0,24	0,47	9000000	7500000	8250000	1060660,172	48,4	6,92
0,48	0,95	2500000	3500000	3000000	707106,7812	81,3	6,48

Lampiran 4.5 Kurva logaritmik *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*

a. *Salmonella thypi* (Etanol)

Polifenol	Log Koloni
0,00	6,92
0,06	6,88
0,12	6,78
0,24	6,65
0,49	6,57
0,97	6,14



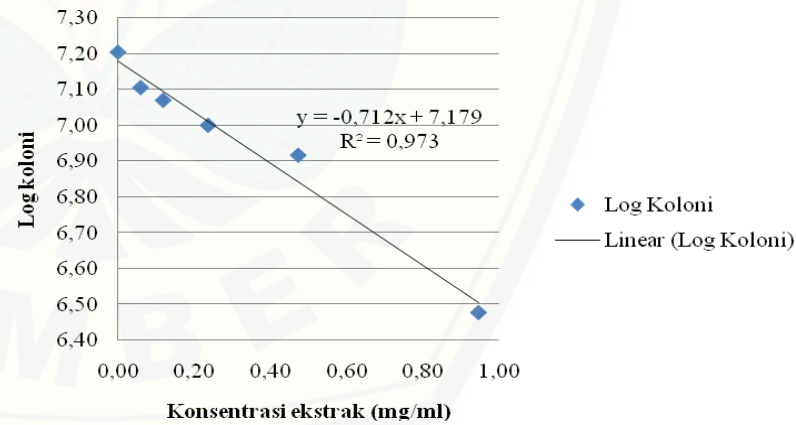
	Kons. Polifenol (mg/ml)	
1 log	5	1,290
	4	3,742
2 log	5	2,581
	3	5,032
3 log	5	2,581
	3	5,032

IC ₅₀		Polifenol (mg/ml)		
Y1 = 1 x 10 ⁸ Y2 = 50% (Y1) = 5 x 10 ⁷	Log Y1 =	8,000	X1 =	-1,419
	Log Y2 =	7,699	X2 =	-1,031
			IC ₅₀	0,388

IC ₉₀		Polifenol (mg/ml)		
Y1 = 1 x 10 ⁸ Y2 = 90% (Y1) = 5 x 10 ⁷	Log Y1 =	7,000	X1 =	-0,129
	Log Y2 =	6,000	X2 =	1,161
			IC ₉₀	1,290

b. *Salmonella thypi* Air

Polifenol	Log Koloni
0,00	7,20
0,06	7,11
0,12	7,07
0,24	7,00
0,47	6,92
0,95	6,48



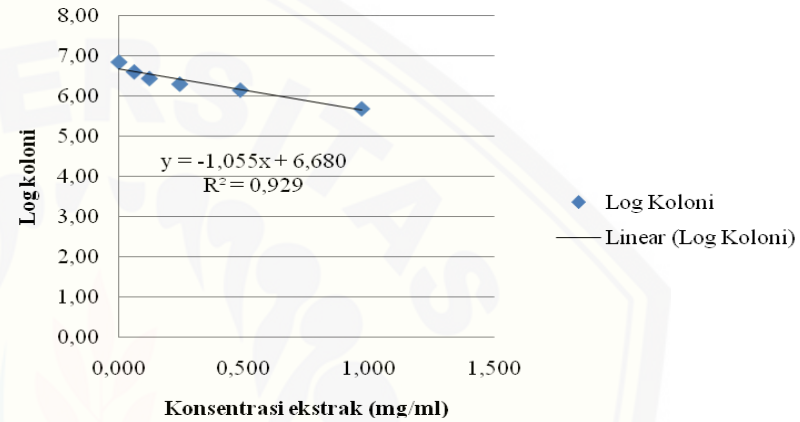
	Kons. Polifenol (mg/ml)		
1 log	5	3,060	1,404
	4	4,465	
2 log	5	3,060	2,809
	3	5,869	
3 log	5	3,060	2,809
	3	5,869	

IC ₅₀		Polifenol (mg/ml)	
Y1 = 1 x 10 ⁸ Y2 = 50% (Y1) = 5 x 10 ⁷	Log Y1 =	8,000	X1 =
	Log Y2 =	7,699	X2 =
			IC ₅₀
			0,423

IC ₉₀		Polifenol (mg/ml)	
Y1 = 1 x 10 ⁸ Y2 = 90% (Y1) = 5 x 10 ⁷	Log Y1 =	7,000	X1 =
	Log Y2 =	6,000	X2 =
			IC ₉₀
			1,404

c. *Staphylococcus aureus* (etanol)

Polifenol (mg/ml)	Log Koloni
0,000	6,86
0,061	6,62
0,121	6,45
0,243	6,31
0,486	6,16
0,972	5,70



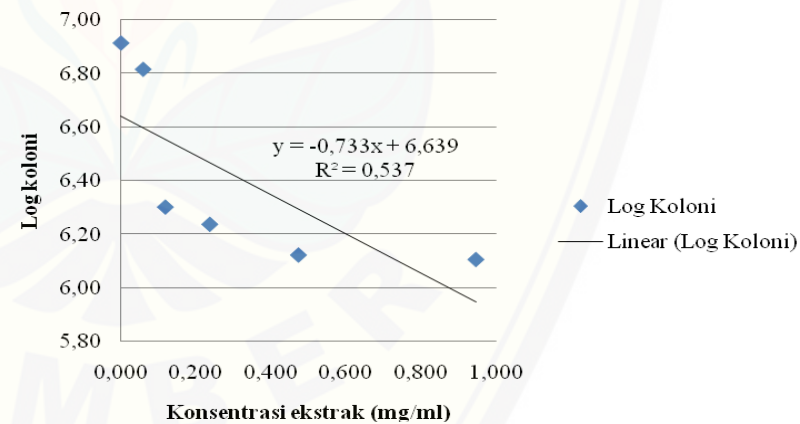
	Kons. Polifenol (mg/ml)		
1 log	5	1,592	0,948
	4	2,540	
2 log	5	1,592	1,896
	3	3,488	
3 log	5	1,592	1,896
	3	3,488	

IC₅₀		Polifenol (mg/ml)	
Y1 = 1 x 10⁸	Log Y1 = 8,000	X1 =	-1,251
Y2 = 50% (Y1) = 5 x 10⁷	Log Y2 = 7,699	X2 =	-0,966
		IC₅₀	0,285

IC₉₀		Polifenol (mg/ml)	
Y1 = 1 x 10⁸	Log Y1 = 7,000	X1 =	-0,303
Y2 = 90% (Y1) = 5 x 10⁷	Log Y2 = 6,000	X2 =	0,645
		IC₉₀	0,948

d. air

Polifenol (mg/ml)	Log Koloni
0,000	6,91
0,059	6,81
0,118	6,30
0,237	6,24
0,473	6,12
0,946	6,11



	Kons. Polifenol (µg/ml)		
1 log	5	2,236	1,364
	4	3,600	
2 log	5	2,236	2,729
	3	4,965	
3 log	5	2,236	2,729
	3	4,965	

IC ₅₀		Polifenol (µg/ml)	
Y1 = 1 x 10 ⁸	Log Y1 =	8,000	X1 = -1,857
Y2 = 50% (Y1) = 5 x 10 ⁷	Log Y2 =	7,699	X2 = -1,446
			IC ₅₀ = 0,411

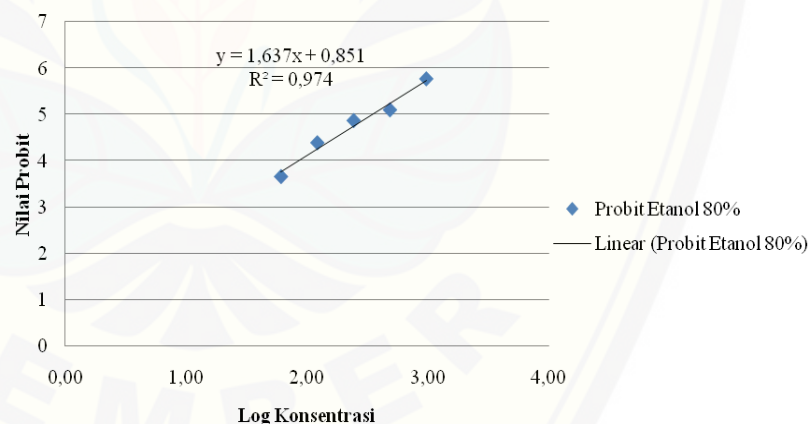
IC ₉₀		Polifenol (µg/ml)	
Y1 = 1 x 10 ⁸	Log Y1 =	7,000	X1 = -0,492
Y2 = 90% (Y1) = 9 x 10 ⁷	Log Y2 =	6,000	X2 = 0,872
			IC ₉₀ = 1,364

Lampiran 4.6. Kurva probit *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*

a. *Salmonella thypi* (etanol)

Ekstrak (µl)	Konsentrasi Ekstrak (µg/ml)	Jumlah Koloni/200 µl		Rata-rata	SD	% penghambatan	Log jumlah koloni	% pertumbuhan	Log C	Probit
		U1	U2							
0	0,00	10000000	6500000	8250000	1750000,00	0,00	6,92	100,00	0,00	0
30	60,72	8500000	6500000	7500000	1000000,00	9,09	6,88	80,00	1,78	3,66
60	121,45	6500000	5500000	6000000	500000,00	27,27	6,78	75,00	2,08	4,39
120	242,90	6000000	3000000	4500000	1500000,00	45,45	6,65	83,33	2,39	4,87
240	485,79	4500000	3000000	3750000	750000,00	54,55	6,57	46,67	2,69	5,1
480	971,58	1000000	2500000	1750000	750000,00	78,79	6,24	0,00	2,99	5,77

Log C	Probit Etanol 80%
1,78	3,66
2,08	4,39
2,39	4,87
2,69	5,1
2,99	5,77



$$y = 1,637 + 0,851$$

$$5 = 1,637x + 0,851$$

$$5 - 0,851 = 1,637 x$$

$$4,149 = 1,637 x$$

$$X = \text{Log } C_{50} = 4,149 / 1,637 = 2,534$$

$$\text{LOG } C_{50} = 2,534 \qquad 341,9794$$

$$\text{IC}_{50} = 341,9794 \text{ (}\mu\text{g/ml)}$$

341,9794 2,534

$$y = 1,637 + 0,851$$

$$6,28 = 1,637 + 0,851$$

$$6,28 - 0,851 = 1,637 x$$

$$5,429 = 1,637 x$$

$$X = \text{Log } C_{90} = 5,429 / 1,637 = 3,3164$$

$$\text{LOG } C_{90} = 3,3164 \qquad 2072,0489$$

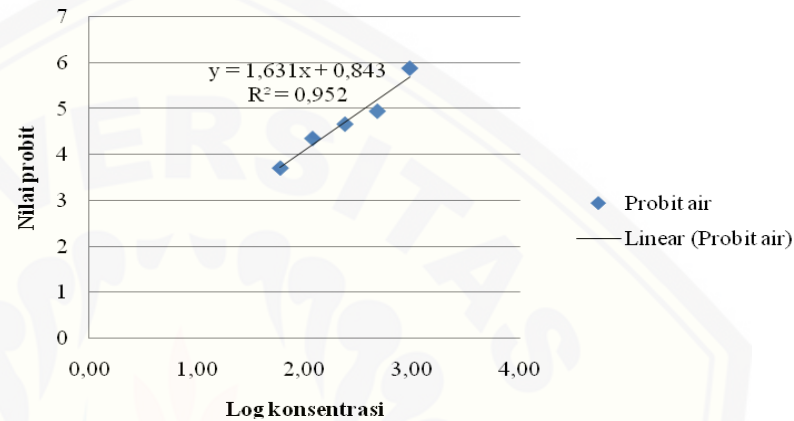
$$\text{IC}_{90} = 2072,0489 \text{ (}\mu\text{g/ml)}$$

2072,0489 3,3164

b. *Salmonella thypi* (Air)

Ekstrak (μl)	Konsentrasi Ekstrak (μg/ml)	Jumlah Koloni/200 μl		Rata-rata	SD	% penghambatan	Log jumlah koloni	% pertumbuhan	Log C	Probit
		U1	U2							
0	0,0	14000000	18000000	16000000	2000000,00	0,00	7,20	100,00	0,00	0
30	59,1	12500000	13000000	12750000	250000,00	20,31	7,11	92,16	1,77	3,72
60	118,3	11500000	12000000	11750000	250000,00	26,56	7,07	85,11	2,07	4,36
120	236,6	9500000	10500000	10000000	500000,00	37,50	7,00	82,50	2,37	4,67
240	473,2	9000000	7500000	8250000	750000,00	48,44	6,92	36,36	2,68	4,95
480	946,3	2500000	3500000	3000000	500000,00	81,25	6,48	0,00	2,98	5,88

Log C	Probit air
1,77	3,72
2,07	4,36
2,37	4,67
2,68	4,95
2,98	5,88



$y = 1,631x + 0,843$
 $5 = 1,631x + 0,843$
 $5 - 0,843 = 1,631 x$
 $4,157 = 1,631 x$
 $X = \text{Log } C_{50} = 3,019 / 1,205 = 2,548$
 $\text{LOG } C_{50} = 2,5248$
 $\text{IC}_{50} = 350,5904$
 ($\mu\text{g/ml}$)

350,5904

350,5904 2,5448

$y = 1,631x + 0,843$
 $6,28 = 1,631x + 0,843$
 $6,28 - 0,843 = 1,631 x$
 $5,437 = 1,631x$
 $X = \text{Log } C_{90} = 5,437 / 1,631 = 3,334$
 $\text{LOG } C_{90} = 3,334$
 $\text{IC}_{90} = 2157,74 (\mu\text{g/ml})$

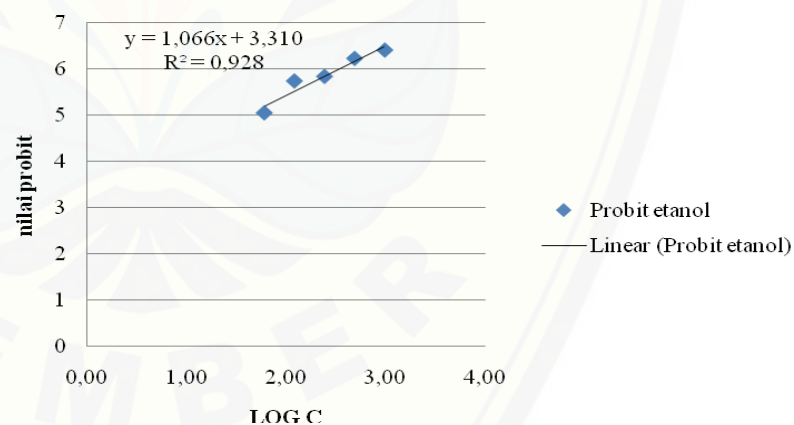
2157,7444

2157,7444 3,334

c. *Staphylococcus aureus* (Etanol)

Ekstrak (ml)	Konsentrasi Ekstrak (µg/ml)	Jumlah Koloni/200 µl		Rata-rata	SD	% penghambatan	Log jumlah koloni	% pertumbuhan	Log C	Probit
		U1	U2							
0	0,000	1400000	13000000	7200000	5800000,00	0,00	6,86	100,0000	0,00	0
0,03	60,724	1250000	7000000	4125000	2875000,00	42,71	6,62	57,2917	1,78	5,05
0,06	121,448	1150000	4500000	2825000	1675000,00	60,76	6,45	68,4848	2,08	5,74
0,12	242,896	600000	3500000	2050000	1450000,00	71,53	6,31	72,5664	2,39	5,84
0,24	485,791	400000	2500000	1450000	1050000,00	79,86	6,16	70,7317	2,69	6,23
0,48	971,583	0	1000000	500000	500000,00	93,06	5,70	34,4828	2,99	6,41

Log C	Probit etanol
1,78	5,05
2,08	5,74
2,39	5,84
2,69	6,23
2,99	6,41



$$\begin{aligned}
 y &= 1,066x + 3,310 \\
 5 &= 1,066x + 3,310 \\
 5 - 3,310 &= 1,066x \\
 1,69 &= 2,231x \\
 X = \text{Log } C_{50} &= 1,69/3,310 = 0,5121 \\
 \text{LOG } C_{50} &= 0,5121 \\
 \text{IC}_{50} &= 3,2516 \text{ (}\mu\text{g/ml)}
 \end{aligned}$$

3,2516

3,2516 0,5121

$$\begin{aligned}
 y &= 1,066x + 3,310 \\
 6,28 &= 1,066x + 3,310 \\
 6,28 - 3,310 &= 1,066x \\
 2,97 &= 1,066x \\
 X = \text{Log } C_{90} &= 2,97/1,066 = 2,7861 \\
 \text{LOG } C_{90} &= 2,7861 \\
 \text{IC}_{90} &= 611,0827 \text{ (}\mu\text{g/ml)}
 \end{aligned}$$

611,0827

611,0827 2,7861

d. *Staphylococcus aureus* (Air)

Ekstrak (ml)	Konsentrasi Ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)	Jumlah Koloni/200 μl		Rata-rata	SD	% penghambatan	Log jumlah koloni	% pertumbuhan	Log C	Probit
		U1	U2							
0	0,0	2350000	14000000	8175000	5825000,00	0,00	6,91	100,00	0,00	0
0,03	59,1	550000	12500000	6525000	5975000,00	20,18	6,81	30,65	1,77	4,39
0,06	118,3	500000	3500000	2000000	1500000,00	75,54	6,30	86,25	2,07	4,76
0,12	236,6	450000	3000000	1725000	1275000,00	78,90	6,24	76,81	2,37	5,36
0,24	473,2	150000	2500000	1325000	1175000,00	83,79	6,12	96,23	2,68	5,67
0,48	946,3	50000	2500000	1275000	1225000,00	84,40	6,11	0,00	2,98	6,75

Log C	Probit
1,77	4,39
2,07	4,76
2,37	5,36
2,68	5,67
2,98	6,75

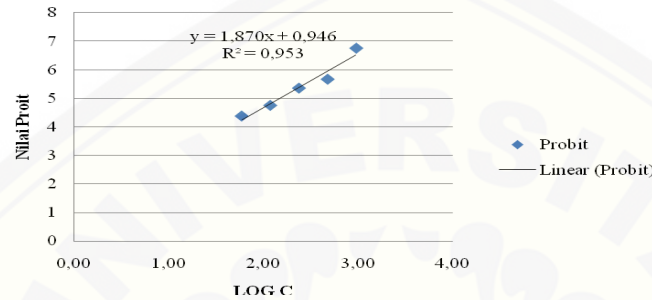


Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

$y = 1,870x + 0,946$
 $5 = 1,870x + 0,946$
 $5 - 0,946 = 1,870 x$
 $4,054 = 1,870 x$
 $X = \text{Log } C_{50} = 4,054/1,870 = 2,1679$
 $\text{LOG } C_{50} = 2,1679$ 147,1974
 $\text{IC}_{50} = 147,19 (\mu\text{g/ml})$

 147,1974 2,1679

$y = 1,870x + 0,946$
 $6.28 = 1,870x + 0,946$
 $6.28 - 0,946 = 1,870 x$
 $5,334 = 1,870 x$
 $X = \text{Log } C_{90} = 5,334/1,870 = 2,8524$
 $\text{LOG } C_{90} = 2.8524$ 711,8689
 $\text{IC}_{90} = 711,8689 (\mu\text{g/ml})$

 711,8689 2,8524

Lampiran 4.7 Dokumentasi Penelitian

a. Pengujian Polifenol dan Antioksidan



Gambar uji aktifitas polifenol ekstrak daun tembakau kasturi



Gambar uji antioksidan ekstrak daun tembakau

b. Proses ekstraksi daun tembakau



Gambar ekstrak daun tembakau kasturi



Gambar proses evaporasi ekstrak daun tembakau kasturi

c. Proses peremajaan bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*

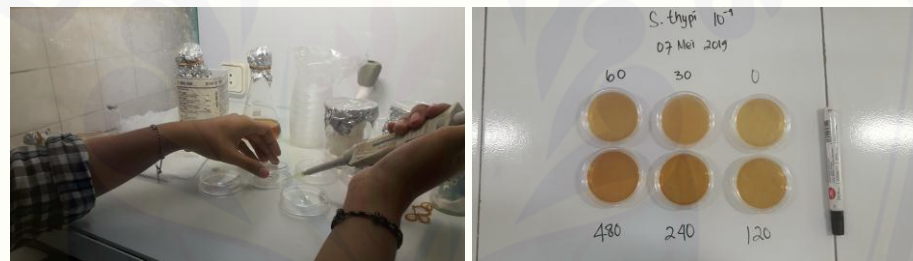


Gambar proses peremajaan bakteri



Gambar media Nutrient Agar miring dan Nutrient Broth

d. Proses uji antibakteri



Gambar uji antibakteri ekstrak daun tembakau



Gambar pertumbuhan Salmonella thypi (kiri) dan Staphylococcus aureus (kanan)