



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *TOBACCO FINES*  
TERHADAP *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

Oleh  
**Nindi Listia Kholidah**  
**NIM 141810301036**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *TOBACCO FINES*  
TERHADAP *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1) dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

**Nindi Listia Kholidah  
NIM 141810301036**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**

## PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur kepada Allah AWT, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibu Sumarti dan Ayah Munir yang telah mendidik, mendoakan, memberikan kasih sayang penuh, pengorbanan yang sangat berarti, motivasi yang luar biasa dan dukungan yang sangat besar;
2. Adik tercinta Anis Sheilatul Ichwah yang senantiasa memberikan semangat;
3. Seluruh keluarga besar PT. Mangli Djaya Raya yang telah banyak memberikan bantuan selama penyelesaian skripsi ini;
4. Almamater tercinta, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

**MOTTO**

“Kegagalan hanya terjadi bila kita menyerah” \*)

“Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), maka kerjakan urusan yang lain dengan sungguh-sungguh” \*\*)

(*Q.S. Al-Insyirah: 6-7*)



---

\*) Lessing

\*\*\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2010. Al-Qur'an dan Terjemahnya. Jakarta Timur: CV. Darus Sunnah

**PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nindi Listia Kholidah

NIM : 14810301036

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Tobacco Fines* Terhadap *Escherichia coli*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab 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 manapun sertabersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juli 2019

Yang menyatakan,

Nindi Listia Kholidah

NIM 14180301036

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *TOBACCO FINES*  
TERHADAP *Escherichia coli***

Oleh

Nindi Listia Kholidah

NIM 141810301036

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Sattya Arimurti, S.P.M.Si.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Tobacco Fines* Terhadap *Escherichia coli*” karya Nindi Listia Kholidah telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas  
Jember

**Tim Penguji:**

Ketua,

Anggota I,

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.  
NIP 198010012003122001

Dr. Sattya Arimurti, S.P.M.Si.  
NIP. 197403311999032001

Anggota II,

Anggota III

drh.Wuryanti Handayani, M.Si.  
NIP. 196008221985032002

I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.  
NIP. 197105011998021002

Mengeshkan

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Jember,

Drs. Sujito, Ph.D.

NIP. 196102041987111001



## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Tobacco Fines* Terhadap *Escherichia coli*;**  
Nindi Listia Kholidah, 1418103010386; 2019; 73 halaman; Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

*Tobacco fines* adalah salah satu jenis limbah daun tembakau dari industri rokok daerah Jember yang belum dimanfaatkan secara optimal. Kandungan senyawa *tobacco fines* dapat dimanfaatkan untuk mengatasi masalah limbah industri. Senyawa umum penyusun daun tembakau yaitu nikotin dan minyak atsiri bermanfaat sebagai senyawa antibakteri. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui profil kandungan senyawa penyusun *tobacco fines* dan aktivitasnya sebagai senyawa antibakteri.

Penelitian eksperimental laboratorik ini meliputi ekstraksi dan analisa GC-MS serta uji aktivitas antibakterinya terhadap *E. coli*. Ekstraksi dilakukan dengan metode distilasi uap dan maserasi menggunakan pelarut metanol. Analisa GC-MS dilakukan dengan menginjeksikan minyak atsiri pada alat GC-MS kemudian membaca kromatogram hasil yang ditampilkan pada *recorder*. Distilasi uap dilakukan 5 jam, sedangkan maserasi dilakukan selama waktu 24 jam. Nilai rendemen dihitung menggunakan rumus perhitungan rendemen berat kering. Senyawa kimia penyusun ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri *tobacco fines* yang berhasil teridentifikasi oleh alat GC-MS diperoleh berdasarkan banyaknya puncak yang muncul pada masing-masing kromatogram dengan nilai *Similarity Index* yang terbesar dari beberapa saran nama yang ditawarkan. Uji aktifitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram pada bakteri *E. coli*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode maserasi *tobacco fines* menghasilkan rendemen ekstrak metanol yang lebih besar namun jumlah senyawa lebih sedikit dibandingkan dengan distilat minyak atsiri hasil distilasi uap *tobacco fines*. Rendemen ekstrak metanol yaitu 7,924% dengan jumlah senyawa kimia yang teridentifikasi sebesar 14 senyawa. Rendemen distilat minyak atsiri yaitu



0,188% dengan jumlah senyawa kimia yang teridentifikasi sebesar 42 senyawa. Ekstrak metanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan distilat minyak atsiri. Ekstrak metanol konsentrasi 100% (DDH  $9,1 \pm 0,2$  mm (non steril) dan  $9,0 \pm 0,0$  mm (steril)) memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 50% (DDH  $8,3 \pm 0,2$  mm (non steril) dan  $8,1 \pm 0,2$  mm (steril)). Aktivitas antibakteri ekstrak metanol (50% dan 100%) lebih besar dibandingkan dengan metanol (DDH  $28,1 \pm 0,3$  mm) sebagai kontrol pelarut namun lebih kecil dibandingkan dengan ampisilin 5.000 ppm (DDH  $7,0 \pm 0,0$  mm) kontrol positif. Distilat minyak atsiri *tobacco fines* (50% dan 100%) tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. DDH pertumbuhan *E. coli* yang dihasilkan sama dengan kontrol pelarutnya yaitu dietil eter sebesar  $6,0 \pm 0,0$  mm.

## PRAKATA

Alhamdulillah, Puji syukur atas kehadiran Allah SWT. yang telah memberikan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga tugas akhir dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Tobacco Fines* Terhadap *Escherichia coli*” dapat terselesaikan dengan baik. Keberhasilan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setingginya kepada :

1. Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Sattya Arimurti, S.P., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah sabar memberikan arahan dan bimbingan hingga terselesaikannya skripsi ini;
2. drh. Wuryanti Handayani, M.Si. dan I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji skripsi yang telah memberikan saran untuk menyempurnakan skripsi ini;
3. Drs. Mukh. Mintadi, Agung Budi Santoso, S.Si., M.Si., dan Drs. Sudarko, Ph.D, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberikan arahan selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Keluarga besar PT. Mangli Djaya Raya yang telah banyak membantu dalam penyelesaian skripsi ini;
5. Seluruh dosen, staff, dan karyawan Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember yang telah membantu dan memberikan dukungan selama pengerjaan skripsi ini;
6. Partner penelitian sekaligus sahabatku, Rohma Nur Fadilah yang telah banyak membantu dan menemani selama menjalankan penelitian skripsi ini;
7. Tim penelitian minyak atsiri dan kimia organik yang telah membantu dan menemani selama menjalankan penelitian skripsi ini;
8. Sahabatku Dira, Chepy, Ulfa, Uchay, Pipit, Ana, Unul yang selalu ada baik suka maupun duka dan sahabat Majesty'14 tercinta yang telah menemani dan banyak membantu selama berjuang bersama di jurusan kimia;

9. Seluruh anggota dan alumni organisasi Ksr PM Unit Universitas Jember yang telah berbagi pengetahuan tentang ilmu kepalangmerahan serta pengalaman berorganisasi selama menjadi anggota;
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING .....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Batasan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Tujuan.....</b>	<b>4</b>
<b>1.5 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tanaman Tembakau.....</b>	<b>5</b>
2.1.2 Pengolahan Industri Daun Tembakau .....	5
2.1.3 Kandungan Daun Tembakau .....	6
<b>2.2 Ekstraksi Kandungan Senyawa Daun Tembakau .....</b>	<b>8</b>
2.2.1 Metode Ekstraksi .....	8
2.2.2 Karakterisasi Senyawa Volatil .....	9
<b>2.3 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4 <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5 Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....</b>	<b>12</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>14</b>

<b>3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>14</b>
3.2.1 Alat .....	14
3.2.2 Bahan.....	14
<b>3.3 Diagram Alir Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.4 Prosedur Kerja.....</b>	<b>15</b>
3.4.1 Sampling.....	15
3.4.2 Uji Kadar Air.....	15
3.4.3 Ekstraksi <i>Tobacco Fines</i> .....	16
3.4.4 Uji Kualitas Hasil Ekstraksi <i>Tobacco Fines</i> .....	17
3.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri .....	18
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1 Profil Ekstrak Metanol dan Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> .....</b>	<b>21</b>
4.1.1 Ekstrak Metanol <i>Tobacco Fines</i> .....	21
4.1.2 Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> .....	22
4.1.3 Rendemen Ekstrak Metanol Dan Distilat Miyak Atsiri .....	23
4.1.4 Komposisi Senyawa Kimia Hasil Ekstraksi <i>Tobacco Fines</i> ..	23
4.1.5 Perbandingan kandungan senyawa daun tembakau dan <i>tobacco fines</i> .....	28
<b>4.2 Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>Tobacco Fines</i> Terhadap         <i>E. coli</i>.....</b>	<b>30</b>
4.2.1 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol <i>Tobacco Fines</i> Terhadap <i>E. coli</i> .....	31
4.2.2 Aktivitas Antibakteri Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> Terhadap <i>E. coli</i> .....	33
4.2.3 Perbedaan Aktivitas Antibakteri Antara Ekstrak Metanol dan Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> Terhadap <i>E. coli</i> .....	35
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>39</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>39</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>39</b>

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>46</b>



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi tanaman tembakau .....	5
Gambar 2.2 <i>Tobacco fines</i> .....	6
Gambar 2.3 Keterangan pembacaan spektra massa.....	10
Gambar 3.1 Set alat distilasi uap .....	16
Gambar 3.2 Pengamatan zona hambat hasil ekstraksi <i>tobacco fines</i> terhadap <i>E. coli</i> .....	20
Gambar 4.1 Proses perendaman <i>tobacco fines</i> pada metanol selama 24 jam.....	21
Gambar 4.2 Bentuk fisik ekstrak metanol <i>tobacco fines</i> .....	22
Gambar 4.3 Bentuk fisik minyak atsiri <i>tobacco fines</i> .....	23
Gambar 4.4 Kromatogram ekstrak <i>tobacco fines</i> .....	24
Gambar 4. 6 Aktivitas antibakteri ekstrak metanol <i>tobacco fines</i> terhadap <i>E. coli</i> .....	31
Gambar 4. 7 Aktivitas antibakteri distilat minyak atsiri <i>tobacco fines</i> terhadap <i>E. coli</i> .....	34



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1	Komposisi senyawa pada daun tembakau ..... 7
Tabel 2.2	Komposisi minyak atsiri tembakau (%) ..... 8
Tabel 2.3	Kriteria kekuatan antibakteri ..... 13
Tabel 4.1	Rendemen hasil ekstraksi <i>tobacco fines</i> menggunakan dua metode.... 23
Tabel 4.2	Jumlah senyawa hasil ekstraksi <i>tobacco fines</i> yang teridentifikasi..... 25
Tabel 4.3	Komposisi senyawa penyusun ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri <i>tobacco fines</i> ..... 26
Tabel 4.4	Senyawa mayor penyusun hasil ekstraksi <i>tobacco fines</i> ..... 27
Tabel 4.5	Kandungan senyawa penyusun ekstrak hasil maserasi <i>tobacco fines</i> dengan daun tembakau ..... 28
Tabel 4.6	Kandungan senyawa penyusun distilat minyak atsiri dari limbah tembakau ( <i>tobacco fines</i> ) dan daun tembakau dari beberapa wilayah 29
Tabel 4.7	Diameter Daya Hambat Pertumbuhan <i>E. coli</i> oleh ekstrak metanol <i>tobacco fines</i> ..... 31
Tabel 4.8	Diameter Daya Hambat Pertumbuhan <i>E. coli</i> oleh distilat minyak atsiri <i>tobacco fines</i> ..... 34
Tabel 4.9	Penggolongan senyawa pada ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri <i>tobacco fines</i> ..... 37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 4. 1	Keterangan Jenis Limbah Tembakau..... 46
Lampiran 4. 2	Keterangan Jenis Bakteri ..... 47
Lampiran 4. 3	Perhitungan Kadar Air <i>Tobacco Fines</i> ..... 48
Lampiran 4. 4	Perhitungan Rendemen <i>Tobacco Fines</i> ..... 49
Lampiran 4. 5	Kromatogram Senyawa Penyusun Ekstrak Metanol <i>Tobacco Fines</i> ..... 51
Lampiran 4. 6	Kromatogram Senyawa Penyusun Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> ..... 52
Lampiran 4. 7	Senyawa Penyusun Ekstrak Metanol <i>Tobacco Fines</i> ..... 53
Lampiran 4. 8	Senyawa Penyusun Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> ..... 54
Lampiran 4. 9	Perbandingan Senyawa Penyusun Hasil Ekstraksi <i>Tobacco Fines</i> Menggunakan Dua Metode Ekstraksi..... 56
Lampiran 4. 10	Senyawa Mayor Penyusun Hasil Ekstraksi <i>Tobacco Fines</i> ..... 59
Lampiran 4. 11	Struktur Senyawa Penyusun Hasil Ekstraksi <i>Tobacco Fines</i> ..... 60
Lampiran 4. 12	Gambar Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Metanol <i>Tobacco Fines</i> ..... 64
Lampiran 4. 13	Gambar Hasil Uji Antibakteri Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> ..... 65
Lampiran 4. 14	Pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) Hasil Ekstraksi <i>Tobacco Fines</i> ..... 66
Lampiran 4. 15	Data Uji Statistika DDH Estrak Metanol <i>Tobacco Fines</i> Terhadap Pertumbuhan <i>E. Coli</i> ..... 67
Lampiran 4. 16	Data Uji Statistika DDH Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> Terhadap Pertumbuhan <i>E. Coli</i> ..... 69
Lampiran 4. 17	Penggolongan Senyawa Ekstrak Metanol dan Distilat Minyak Atsiri <i>Tobacco Fines</i> ..... 71

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tembakau adalah tanaman musiman yang tergolong dalam tanaman perkebunan. Pemanfaatan tanaman tembakau terutama pada daunnya yaitu sebagai bahan dasar rokok (Tirtosastro dan Murdiyati, 2009). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2014) tahun 2012 dan 2013 Jember merupakan penghasil tembakau terbesar di Jawa Timur. Areal panen tembakau, produksi, dan produktivitas tembakau di Kabupaten Jember cenderung meningkat setiap tahunnya. Areal produksi tanaman tembakau rata-rata pada tahun 2006-2013 sebesar 11.967,38 Ha dan memproduksi tembakau sebanyak 12.768,13 ton/ tahun.

PT. Mangli Djaya Raya (MDR) merupakan salah satu perusahaan yang bergerak dalam bidang eksportir dan jasa pengeringan (*redrying*) tembakau di Kabupaten Jember. Limbah *redrying* daun tembakau yang dihasilkan pada proses produksi PT. MDR berupa ganggang (*tobacco stem*), *tobacco fines*, dan *tobacco dust*. Limbah daun tembakau membutuhkan tempat penyimpanan dan perawatan khusus agar dapat dijual kembali dalam bentuk limbah tanpa pengolahan lebih lanjut. Biasanya limbah daun tembakau (*tobacco fines*) dijual kembali dengan harga yaitu Rp. 1.000/ kg untuk dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan pestisida alami (Komunikasi pribadi, 2018).

Limbah *redrying* daun tembakau tidak dapat dibuang begitu saja karena mengandung senyawa alkaloid toksik berupa nikotin. Pembakaran limbah dapat menyebabkan senyawa nikotin tersebut terbebas diudara memicu timbulnya penyakit kanker paru-paru, sesak nafas, dan lain sebagainya sehingga perlu dikurangi penggunaan nikotin yang berbahaya bagi tubuh (Dermarderosian, 2001). Kandungan senyawa nikotin pada batang tanaman tembakau berkisar antara 1,87-2,65%, sedangkan kadar nikotin dari berat kering daun tembakau berkisar antara 0,5-8% (Tirtosastro dan Murdiyati, 2009). Selain nikotin, tembakau juga mengandung senyawa volatil lain yaitu minyak atsiri. Minyak atsiri dikenal dengan nama minyak eteris atau minyak terbang (*essential oil*,

*volatile*) merupakan salah satu hasil metabolisme tanaman (Sudaryanti dan Sugiharti, 1990). Berdasarkan studi literatur yang dilakukan, belum diperoleh informasi tentang eksplorasi kandungan dan pemanfaatan *tobacco fines*, sehingga investigasi terhadap *tobacco fines* dirasa cukup berarti sebagai nilai tambah pada industri tembakau dan sebagai solusi dalam mengatasi masalah pengolahan limbah dengan memanfaatkan senyawa yang terkandung didalamnya.

Minyak atsiri dapat diperoleh melalui metode ekstraksi. Ekstraksi minyak atsiri dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode antara lain distilasi, pressing, ekstraksi pelarut (maserasi) dan absorpsi oleh lemak padat. Distilasi uap dan ekstraksi pelarut merupakan metode sederhana yang dapat digunakan untuk memperoleh minyak atsiri (Setiati, 2001; Wesolowska dkk., 2010). Ekstrak daun tembakau mengandung bahan aktif antara lain senyawa golongan fenol berupa flavonoid, golongan alkaloid berupa nikotin, dan juga mengandung golongan terpenoid berupa minyak atsiri (Fathiazad dkk., 2005; Susilowati, 2006; Eka, 2011). Berdasarkan penelitian Pranowo (2011) ekstrak daun tembakau hasil maserasi masih mengandung bahan aktif berbahaya berupa nikotin.

Minyak atsiri daun tembakau dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri. Hal itu dibuktikan dengan adanya zona hambat aktivitas antibakteri minyak atsiri daun tembakau jenis Prilep (Palic dkk., 2002) dan daun tembakau jenis Oltja (Stojanovic dkk., 2002) hasil distilasi air terhadap *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), dan *Pseudomonas aeruginosa* (*P. Aeruginosa*). Selain itu, pada penelitian Eka (2011) metode sokletasi daun tembakau dari batang bagian atas dan bawah menghasilkan ekstrak etanol yang mengandung senyawa flavonoid juga memiliki kemampuan antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan adanya zona hambat yang terbentuk. Ekstrak etanol daun tembakau pada konsentrasi 80%-100% (b/v) memiliki daya hambat lebih besar terhadap *E. coli* (8 mm) dibandingkan dengan *S. aureus* (7 mm). Antibakteri digambarkan sebagai produk alami organik dengan berat molekul rendah dibentuk oleh mikroorganisme dan tumbuhan yang aktif melawan mikroorganisme lain pada konsentrasi rendah (Wax dkk., 2008). Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel

dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein bakteriolitik (Pelczar, 1988). *E. coli* itu sendiri merupakan flora normal yang digunakan sebagai bakteri indikator pencemaran air oleh feses. *E. coli* bersifat patogen apabila jumlahnya dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus (Haribi dan Yusron, 2010). Sehingga melakukan kajian mengenai uji antibakteri dirasa cukup penting.

Berdasarkan uraian-uraian diatas, maka dalam penelitian ini akan di kaji tentang ekstraksi senyawa volatil dari *tobacco fines* dengan metode ekstraksi pelarut (maserasi) dan distilasi uap. Ekstrak yang diperoleh akan dikarakterisasi kandungannya dan diaplikasikan untuk uji aktivitas antibakteri *E. coli*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana perbedaan profil ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri dari *tobacco fines*?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri dari *tobacco fines* terhadap *E. coli*?

## 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah berdasarkan penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Sampel *tobacco fines* yang digunakan merupakan jenis tembakau Na Oogst berasal dari PT. Mangli Djaya Raya – Petung Kabupaten Jember.
2. Profil ekstrak hasil maserasi (ekstraksi pelarut) dan distilasi uap *tobacco fines* berupa:
  - rendemen, analisis senyawa kimia volatil menggunakan GC-MS.



3. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi kertas cakram dengan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli*.

#### **1.4 Tujuan**

Adapun tujuan dari penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Mempelajari perbedaan profil ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri dari *tobacco fines*.
2. Mempelajari aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri dari *tobacco fines* terhadap *E. coli*.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian dari potensi antibakteri ekstrak *tobacco fines* terhadap bakteri *E. coli* adalah mendapatkan metode ekstraksi *tobacco fines* yang optimum menghasilkan senyawa antibakteri. Selain itu kandungan senyawa *tobacco fines* yang berpotensi sebagai antibakteri juga dapat diturunkan menjadi variasi produk antibakteri untuk penelitian lanjutan guna meningkatkan pendapatan instansi yang terkait sehingga limbah yang dihasilkan selama produksi tidak terbuang sia-sia. Penelitian ini juga berguna sebagai koleksi ilmu pengetahuan untuk semua kalangan.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Tembakau

Tembakau (*Nicotiana tabacum*) merupakan salah satu tanaman musiman yang tergolong dalam tanaman perkebunan. Daun tembakau dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar rokok. Tembakau memiliki varietas yang banyak jumlahnya, dan disetiap daerah terdapat perbedaan jumlah kadar nikotin, bentuk daun, dan jumlah daun yang dihasilkan (Tirtosastro dan Murdiyati, 2009). Morfologi tanaman tembakau dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Morfologi tanaman tembakau (Sumber: Dokumentasi pribadi, 2018)

#### 2.1.2 Pengolahan Industri Daun Tembakau

Daun tembakau pasca panen diolah menjadi tembakau kering (kerosok, rajangan) melalui proses pengeringan berupa aplikasi udara panas matahari (penjemuran), panas buatan, atau panas dari alam. Pengolahan daun tembakau tersebut akan menghasilkan limbah industri secara langsung maupun tidak langsung (Tirtosastro dan Murdiyati, 2011). PT. Mangli Djaya Raya (MDR) yang berada di Jember merupakan salah satu perusahaan yang melakukan jasa pengeringan ulang daun tembakau (*redrying*) dan diekspor ke pabrik-pabrik rokok. Fatimah Yusroh (Personal Komunikasi, 2018), salah satu pegawai PT. MDR mengatakan bahwa proses pengolahan industri daun tembakau menghasilkan limbah tembakau langsung berupa ganggang (*tobacco stem*) yang



tidak digunakan selama proses *redrying* tembakau kerosok dan potongan daun tembakau berukuran sangat kecil (*tobacco fines*) hasil penyortiran pada proses *redrying* tembakau rajangan, serta debu tembakau selama proses *redrying* (*tobacco dust*). Penelitian ini memanfaatkan limbah *redrying* tembakau berupa *tobacco fines* yang dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 *Tobacco fines* (Sumber: Dokumentasi pribadi, 2018)

### 2.1.3 Kandungan Daun Tembakau

Daun tembakau mengandung berbagai macam bahan aktif. Bahan aktif tersebut antara lain senyawa golongan fenol berupa flavonoid, golongan alkaloid berupa nikotin, dan juga mengandung senyawa golongan terpenoid berupa minyak atsiri (Fathiazad, 2005; Susilowati, 2006; Eka, 2011). Nikotin merupakan senyawa alkaloid pada tembakau yang digunakan sebagai rokok dikenal dapat memicu timbulnya penyakit kanker paru-paru, sesak nafas, gigi kuning, kerusakan jaringan, leukoplakia, resiko kanker mulut, dan penurunan kemampuan indra pengecap (DerMarderosian, 2001). Namun tembakau juga dikenal sebagai tanaman herbal yang bermanfaat. Hal ini dibuktikan dengan diketahuinya senyawa kimia pada tembakau yang bersifat antioksidan (Miller, 1973) dan juga antibakteri (Khidyrova dan Shakhidoyatov, 2002). Senyawa antibakteri pada tembakau yang diketahui berdasarkan penelitian sebelumnya misalnya flavonoid dan minyak atsiri (*essential oil*) (Machado dkk., 2010; Palic dkk., 2002). Komponen senyawa pada daun tembakau dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi senyawa pada daun tembakau

Komponen	Komposisi (% bk)
Total nitrogen	2,20
Protein nitrogen (protein)	1,58
Nikotin	0,67
Nitrogen dari asam $\alpha$ -amino	0,30
Air terlarut karbohidrat	25,9
Selulosa	12,3
Pektin	13,4
Polipentosa	4,90
Minyak atsiri	0,13
Resin yang diektrak menggunakan benzena	7,42
Resin yang diektrak menggunakan petroleum eter	6,20
Polyphenol	4,39
Volatile karbonil (asetaldehid)	0,26
Asam organic	9,12
- Asam oksalat	2,18
- Asam sitrat	1,27
- Asam malat	4,57
- Asam volatil	1,12
Ph dari air yang terekstrak	5,54
Abu	15,4

Sumber: Podlejski dan Olejniczak (1983)

Berdasarkan Tabel 2.1 minyak atsiri juga merupakan salah satu komponen penyusun senyawa pada daun tembakau. Minyak atsiri dikenal dengan nama minyak eteris atau minyak terbang (*essential oil, volatile*) yang merupakan salah satu hasil metabolisme tanaman. Bersifat mudah menguap pada suhu kamar, mempunyai rasa getir, serta berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya. Minyak atsiri larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air (Sudaryanti dan Sugiharti, 1990). Minyak atsiri umumnya memiliki aktivitas biologis sebagai antijamur, antibakteri dan sejenisnya. Minyak atsiri umumnya dibagi menjadi dua komponen yaitu golongan hidrokarbon dan golongan hidrokarbon teroksigenasi (Robinson, 1991; Soetarno, 1990).

Minyak atsiri secara umum tidak lagi mengandung zat-zat kimia yang berbahaya, seperti nikotin. Berdasarkan pengujian menggunakan Kromatografi Gas (GC) oleh Stojanovic dkk. (2000), minyak atsiri yang diektrak dari tembakau tersusun oleh beragam komponen kimia. Minyak atsiri yang di ekstrak

berasal dari daun bagian atas dan tengah dari tanaman tembakau dari tembakau Oltja.

Tabel 2.2 Komposisi minyak atsiri tembakau (%)

Komponen	Daun tengah	Daun atas
Nonanal	<0,1	0,2
(E,Z)-2,6-nonadienal	<0,1	0,2
n-Dekanal	<0,1	0,2
Pulegon	<0,1	0,2
Solanon	21,6	15,0
(Z)- $\beta$ -damaskenon	1,6	1,7
(Z)- $\beta$ -damaskon	0,5	0,4
Geranil aseton	0,4	0,5
Norsolanadion	0,4	0,2
Neofitadiena	20,4	20,7
6,10,14-trimetil-2-pentadekanon	1,6	2,3
Asam Pentadekanoat	0,7	1,2
Epoksilabdenol (I)	2,5	2,1
Epoksilabdenol (II)	6,3	5,4
Epoksilabdenol (III)	1,0	0,8
Heneikosana	0,3	<0,1
Trikosana	0,4	<0,1

Sumber: Stojanovic dkk. (2000).

## 2.2 Ekstraksi Kandungan Senyawa Daun Tembakau

### 2.2.1 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman menggunakan bahan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya (Sri dan Suyanti, 2012). Metode ekstraksi terbagi menjadi beberapa macam diantaranya penyulingan (distilasi) dan ekstraksi pelarut (maserasi). Distilasi dapat didefinisikan sebagai pemisahan komponen-komponen suatu campuran dari dua jenis cairan atau lebih berdasarkan tekanan uap dari masing-masing zat tersebut. Berdasarkan kontak uap dengan bahan yang akan disuling, distilasi dibagi menjadi dua jenis yaitu distilasi air dan distilasi uap. Distilasi uap merupakan metode sederhana yang dapat digunakan untuk memperoleh minyak atsiri (Wesolowska dkk., 2010). Prinsip distilasi uap yaitu pemisahan komponen

suatu campuran yang terdiri dari dua jenis cairan atau lebih berdasarkan perbedaan tekanan uap dari masing-masing zat tersebut (Miall, 1940).

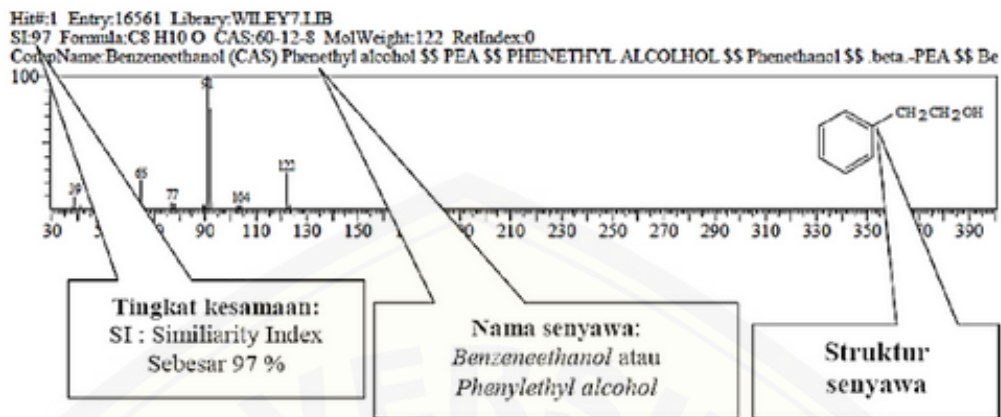
Ekstraksi pelarut (maserasi) umumnya dilakukan untuk memperoleh komponen, baik dari sampel padatan ataupun cairan. Beberapa teknik ekstraksi melibatkan partisi antara dua pelarut yang tak saling larut. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan yang digunakan umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar disatukan dengan bahan pengestraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali (Setiati, 2001). Maserasi memiliki beberapa kelebihan yaitu jumlah pelarut yang digunakan tidak terlalu banyak dan suhu ekstraksi yang digunakan di bawah titik didih pelarut sehingga terdegradasinya komponen minyak akibat panas dapat dihindari (Fellow, 2000).

#### 2.2.2 Karakterisasi Senyawa Volatil

Analisis senyawa volatil umumnya dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas (GC) (analisis kualitatif) dan kromatografi-spektrometri massa (GC-MS) (analisis kuantitatif). Identifikasi komponen sampel diambil dari waktu retensi GC dan data berat molekul MS terhadap standart dan perbandingan terhadap literatur sebelumnya. Instrumen GC-MS merupakan gabungan dari dua prinsip kerja. Kromatografi gas berfungsi untuk memisahkan komponen kimia dalam minyak atsiri berdasarkan interaksi masing-masing komponen kimia dengan kolom (fasa diam). Selanjutnya komponen kimia yang terpisah dapat diketahui senyawa kimia berdasarkan analisis massa yang diberikan oleh masing-masing komponen senyawa (Hendayana, 2006).

GC-MS dalam fragmentasi, kemungkinan besar mudah dimengerti dengan pengertian pergeseran elektron menggunakan konsep stabilisasi muatan oleh induksi dan resonansi (Gambar 2.3). Pemecahan ion molekuler (atau setiap ion elektron ganjil) dapat terjadi oleh pemutusan ikatan dengan dua cara yaitu heterolitik atau homolitik. Sumbu horizontal menunjukkan massa molekul yang dianalisis ( $m/z$ ) sedangkan sumbu vertikal menunjukkan jumlah kelimpahan ion atau molekul terfragmentasi (Hardjono, 1992).





Gambar 2.3 Keterangan pembacaan spektra massa (Sumber: Hardjono, 1992)

### 2.3 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau

Tanaman tembakau dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Senyawa antibakteri pada tembakau yang diketahui berdasarkan penelitian sebelumnya misalnya flavonoid (Machado dkk., 2010) dan minyak atsiri (*essential oil*) (Palic dkk., 2002). Antibakteri adalah zat yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme melalui penghambatan pertumbuhan bakteri. Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri), bakteriosidal (membunuh bakteri), dan bakteriolitik (Pelczar, 1988).

Palic dkk. (2002) telah melakukan penelitian mengenai perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak dan minyak atsiri dari daun tembakau Prilep yang dipetik dari batang bagian atas dan tengah. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri tembakau Prilep memiliki kemampuan antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tembakau Prilep. Diameter zona hambat (mm) aktivitas antibakteri oleh minyak atsiri daun bagian tengah sebesar 15,0 (untuk

bakteri *E. coli*), 15,2 (untuk bakteri *S. aureus*), 15,2 (untuk bakteri *P. aeruginosa*). Diameter zona hambat (mm) aktivitas antibakteri oleh minyak atsiri daun bagian atas sebesar 14,0 (untuk bakteri *E. coli*), 14,8 (untuk bakteri *S. aureus*), 14,8 (untuk bakteri *P. aeruginosa*).

Stojanovic dkk. (2002) juga telah melakukan penelitian yang sama mengenai perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak dan minyak atsiri dari tembakau Oltja yang dipetik dari batang bagian atas dan tengah. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri tembakau Oltja juga memiliki kemampuan antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tembakau Oltja. Diameter zona hambat (mm) aktivitas antibakteri oleh minyak atsiri daun bagian tengah sebesar 15,0 (untuk bakteri *E. coli*), 15,4 (untuk bakteri *S. aureus*), 15,4 (untuk bakteri *P. aeruginosa*). Diameter zona hambat (mm) aktivitas antibakteri oleh minyak atsiri daun bagian atas sebesar 20,0 (untuk bakteri *E. coli*), 24,4 (untuk bakteri *S. aureus*), 20,2 (untuk bakteri *P. aeruginosa*).

Ekstrak etanol daun tembakau bagian atas dan tengah daun tembakau Temanggung varietas Genjah Kemloko juga memiliki kemampuan antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan adanya zona hambat yang terbentuk. Pada konsentrasi 20%, daya hambat ekstrak etanol daun tembakau bagian atas dan tengah terhadap *S. aureus* dan *E. coli* tergolong lemah (4 mm). Sementara itu, daya hambat ekstrak etanol daun tembakau bagian atas dan tengah terhadap *S. aureus* dan *E. coli* tergolong sedang pada konsentrasi 40%-100% (b/v). Ekstrak etanol daun tembakau Temanggung varietas Genjah Kemloko pada rentang konsentrasi 20-100% (b/v) tidak memiliki aktivitas yang kuat dalam menghambat bakteri *S. aureus* maupun *E. coli* (5-10 mm) (Eka, 2011).

#### **2.4 *Escherichia coli* (*E. coli*)**

*E. coli* itu sendiri merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *E. coli* dapat tumbuh baik pada media *Mc Conkey* dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar. *E. coli* dapat merombak karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat

menghasilkan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar, 1998). *E. coli* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio : Schizomycetea  
Kelas : Schizomycetes  
Ordo : Eubacteriales  
Famili : Enterobacteriaceae  
Genus : Escherichia  
Spesies : *Escherichia coli* (Salle, 1961).

*E. coli* merupakan mikroorganisme yang dapat ditemukan ditubuh manusia tanpa menyebabkan penyakit, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* banyak ditemukan di dalam usus halus manusia dan umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru-paru, saluran empedu dan saluran otak (Jawetz dkk., 2005). Selain itu *E. coli* juga dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Karsinah dkk., 1994).

## 2.5 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Pengukuran aktivitas senyawa antibakteri dilakukan untuk menentukan potensi suatu senyawa yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz dkk., 2005). Metode uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan adalah metode difusi agar. Piringan yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh agen antibakteri (Pratiwi, 2008). Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu metode difusi cakram dan metode sumuran. Metode difusi agar dengan menggunakan cakram kertas, dimana dalam teknik ini media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri kemudian dimasukan kertas cakram dalam media dan diisi dengan senyawa uji. Metode ini memiliki kelebihan yaitu cepat, mudah dan murah karena tidak



memiliki alat khusus. Diameter zona penghambatan merupakan pengukuran MIC (*minimum inhibitory concentration*) secara tidak langsung dari antibiotika terhadap bakteri (Greenwood, 1995). Kriteria kekuatan daya hambat senyawa antibakteri dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kriteria kekuatan antibakteri

No	Zona hambat	Daya hambat
1	>20 mm	daya hambat sangat kuat
2	10-20 mm	daya hambat kuat
3	5-10 mm	daya hambat sedang
4	0-5 mm	daya hambat lemah

Sumber: Nazri dkk. (2011) dalam Hapsari (2015).

### BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai Maret 2019 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

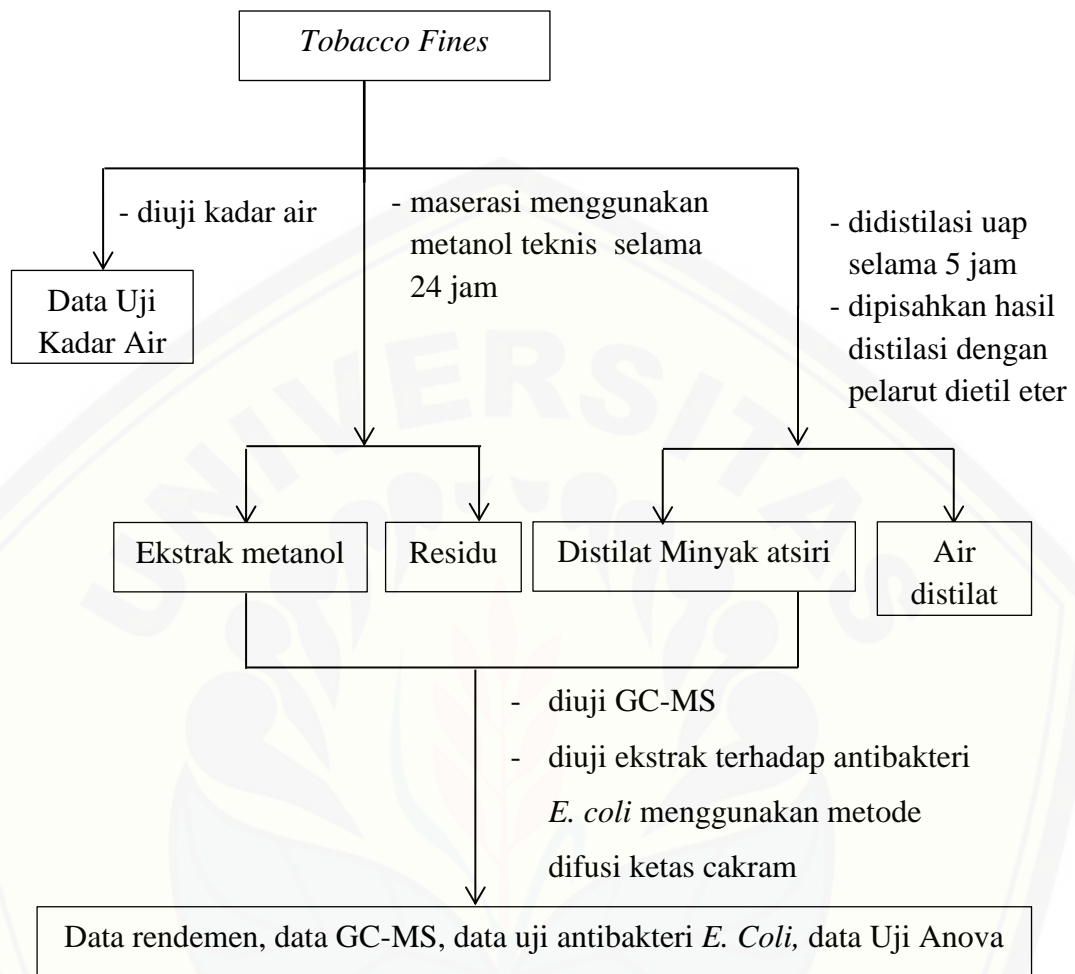
##### 3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, pipet volume, *ball* pipet, botol semprot, wadah, pipa kaca distilasi, labu alas bulat, penangas air, mantel pemanas, labu leher tiga, statif dan klem, pipa distilasi, corong pisah, termometer, cawan petri, karet penutup, neraca analitik, desikator, cawan porselin, *rotary vacuum evaporator*, dan seperangkat alat *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS). Alat-alat lainnya yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri meliputi cawan petri, *gel puchner* dengan diameter 3 cm, ose, peralatan gelas, pipet mikro, gelas ukur, sudip, batang pengaduk (*stirrer*), oven, *Milipore* filter, *shaker incubator*, oven inkubator, *corkborer*, bunsen, aluminium foil, plastik wrap, karet gelang, korek api, kain kasa, dan kapas.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah daun tembakau (*tobacco fines*), metanol 96%, dietil eter PA, *aquades*, tisu, isolat *E. coli*, media NA, NB, dan ampisilin (50 gram/mL).

### 3.3 Diagram Alir Penelitian



### 3.4 Prosedur Kerja

#### 3.4.1 Sampling

Pengambilan sampel limbah *tobacco fines* jenis Na Oogst di PT. Mangli Djaya Raya di Desa Mangli Kecamatan Mangli Kabupaten Jember. Limbah tembakau yang digunakan yakni limbah hasil pengolahan daun tembakau kering berbentuk potongan-potongan kecil berwarna coklat.

#### 3.4.2 Uji Kadar Air

Sampel sebanyak 2 gram ditimbang dalam cawan porselin yang telah dikeringkan dan diketahui beratnya. Cawan yang berisi sampel kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105-110°C selama tiga jam. Cawan dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Pengeringan

dilanjutkan lagi dan setiap setengah jam didinginkan lalu ditimbang hingga didapatkan berat konstan. Kadar air dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B_1 - B_2}{B_1} \times 100\%$$

Keterangan :

B1 = berat awal sampel

B2 = berat konstan

(AOAC, 1995).

### 3.4.3 Ekstraksi *Tobacco Fines*

#### a. Distilasi uap

*Tobacco fines* ditimbang sebanyak 150 gram dan dimasukkan ke dalam labu leher tiga yang diletakkan diatas mantel pemanas kemudian dihubungkan dengan labu alas bulat yang berisi air sebanyak 3,5 liter yang diletakkan di atas mantel pemanas. Sedangkan minyak atsiri akan ditampung dengan corong pisah yang dihubungkan dengan pipa kaca distilasi. Hasil distilasi dipisahkan menggunakan pelarut dietil eter p.a (*pro analys*) dan didapatkan distilat minyak atsiri. *Tobacco fines* didistilasi selama 5 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali dengan prosedur yang sama. Set alat distilasi uap dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Set alat distilasi uap (Dokumentasi pribadi, 2018)

#### b. Maserasi

*Tobacco fines* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol teknis. Pelarut tersebut dipilih berdasarkan sifat kepolarannya. *Tobacco fines* ditimbang sebanyak 100 gram dan direndam dengan 600 mL metanol teknis, kemudian diaduk dan didiamkan selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan residu dan filtratnya menggunakan corong *buchner*. Filtrat kemudian dipisahkan dengan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* (suhu 45°C kecepatan putar 50 rpm pada tekanan 100 mBar) lalu ditimbang sehingga diperoleh ekstrak metanol *tobacco fines*.

#### 3.4.4 Uji Kualitas Hasil Ekstraksi *Tobacco Fines*

##### a. Rendemen

Pengukuran rendemen didasarkan pada massa hasil ekstraksi *tobacco fines* menggunakan dua metode ekstraksi yang diperoleh dari setiap satuan massa bahan yang digunakan. Rendemen dapat dihitung melalui persamaan di bawah ini :

$$\text{Rendemen hasil ekstraksi (\%)} = \frac{\text{massa hasil ekstraksi (g)}}{\text{massa bahan kering (g)}} \times 100\%$$

Keterangan:

- massa hasil ekstraksi berupa ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri

##### b. Uji *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS)

Komponen volatil penyusun ekstrak *tobacco fines* dianalisa menggunakan GC-MS. Sampel yang akan di uji berupa ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri *tobacco fines*. Hasil analisa komponen minyak atsiri ini berupa kromatogram dengan puncak-puncak komponen dilengkapi kelimpahan area (%) dan waktu retensi masing-masing.

Spesifikasi GC-MS yang digunakan adalah :

Instrumen	: GCMS-QP2010S SHIMADZU
Kolom	: Rtx 5 MS
Detektor	: MS ( <i>Mass Spectrometry</i> )
Panjang	: 30 meter
ID	: 0,25 mm



Gas pembawa : Helium

Suhu kolom : 70°C

Suhu injeksi : 300°C

#### 3.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

##### a. Pembuatan media

NB (*Nutrient Broth*) sebanyak 45 gram dimasukkan ke dalam *beaker glass* berisi 450 mL akuades, kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk. Larutan NB yang sudah mendidih diambil sebanyak 5 mL (untuk media pembiakan bakteri) dimasukkan kedalam masing-masing 5 tabung reaksi dan sebanyak 100 mL dimasukkan kedalam erlenmeyer (untuk media pengenceran bakteri) masing-masing ditutup menggunakan kapas. Sisa larutan NB ditambahkan dengan 4,5 gram agar untuk pembuatan media NA, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan diaduk. Larutan setelah mendidih diambil sebanyak 5 mL dimasukkan kedalam masing-masing 10 tabung reaksi (untuk media penanaman bakteri) dan sebanyak 15 mL dimasukkan ke dalam 16 tabung reaksi besar (untuk media lempeng) masing-masing ditutup menggunakan kapas. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama kurang lebih 5 jam. Media kemudian disimpan, untuk media NA diletakkan miring selama 24 jam. NB yang digunakan mengandung pepton 10 gram, NaCl 5 gram, *beef ekstrak* 3 gram, sedangkan NA mengandung NB (pepton 10 gram, NaCl 5 gram, *beef ekstrak* 3 gram) dan 4,5 agar.

##### b. Pembuatan biakan *E. coli*

Sebanyak 1 ose isolat *E. coli* ditempelkan pada media NA miring dengan pola zig zag dalam keadaan steril (menggunakan Laminar). Inkubasi biakan pada suhu 37 °C selama 24 jam.

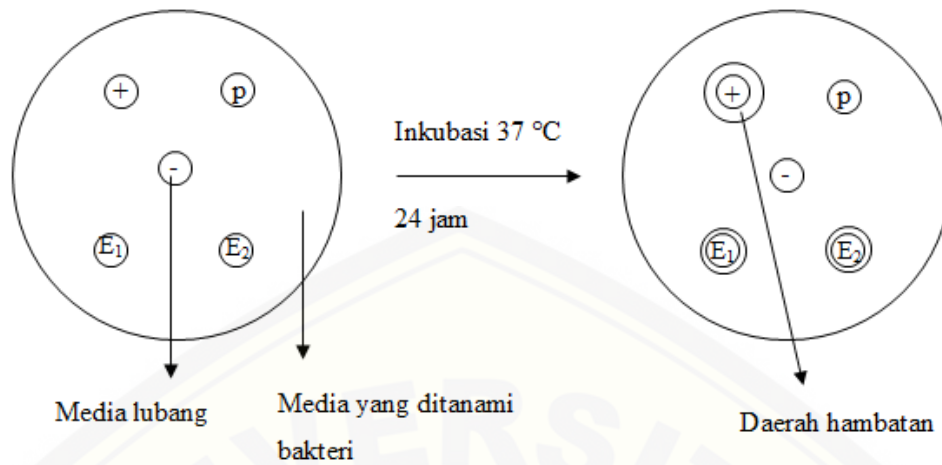
##### c. Uji aktivitas antibakteri

Kultur isolat *E. coli* sebanyak 1 ose diambil dari media NA miring dimasukkan ke dalam pada 100 mL media NB dalam erlenmeyer yang telah disterilisasi kemudian diseker selama 24 jam. Kultur isolat *E. coli* selanjutnya diambil 100 µl, disebar menggunakan metode *spread plate* pada media NA yang telah dituang ke dalam cawan petridish. Pada media Na tersebut diletakkan kertas

cakram steril berbentuk lingkarang dengan diameter 5 mm menggunakan *corkborer* steril sebanyak 5 buah. Masing-masing kertas cakram berisi 10 µl hasil ekstraksi *tobacco fines* non steril, 10 µl hasil ekstraksi *tobacco fines* steril, 10 µl kontrol pelarut, 10 µl kontrol positif dan 10 µl kontrol negatif. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil ekstraksi *tobacco fines* yang digunakan berupa ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri. Ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri dilakukan dua macam perlakuan yaitu tanpa sterilisasi (non steril) dan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan *Milipore* filter yang memiliki membrane filter atau penyaring terbuat dari ester selulosa berdiameter 0,2 µm. Sterilisasi bahan menggunakan *Millipore* filter akan memisahkan mikroorganisme dari bahan melalui metode filtrasi sehingga berguna untuk sterilisasi bahan yang tidak tahan panas atau termolabil dan mudah rusak (Gabriel, 1996).

Konsentrasi yang digunakan sebesar 50 % dan 100% dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Kontrol pelarut yang digunakan pada ekstrak metanol berupa metanol teknis 96% sedangkan pada distilat minyak atsiri menggunakan dietil eter p.a. Kontrol negatif digunakan media berupa akuades (Reynaldo dkk, 2011) dan sebagai kontrol positif digunakan larutan antibiotik ampisilin teknis (5.000 ppm). Parameter daya hambat diamati berdasarkan zona hambat dari kedua hasil ekstraksi *tobacco fines* terhadap pertumbuhan *E. coli*. Daya hambat positif jika terdapat zona hambat di sekitar koloni. Pengamatan zona hambat dapat dilihat pada gambar 3.1.



Keterangan:

- + : kontrol positif (ampisilin)
- : kontrol negatif (akuades,)
- p : kontrol pelarut (metanol pada ekstrak hasil maserasi, dan dietil eter pada ekstrak hasil distilasi)
- E<sub>1</sub> : hasil ekstraksi *tobacco fines* non steril
- E<sub>2</sub> : hasil ekstraksi *tobacco fines* steril

Gambar 3.2 Pengamatan zona hambat hasil ekstraksi *tobacco fines* terhadap *E. coli*

#### d. Analisis data

Data hasil pengukuran DDH pertumbuhan *E. coli* ekstrak metanol dan distilat minyak atsiri *tobacco fines* serta kontrol yang digunakan dianalisis secara statistik melalui Uji Two Way Anova dilanjut dengan Uji *Independent T Test* dan Uji *Duncan* menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics 22.0*. Uji *Independent T Test* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan *mean* (rata-rata) DDH ekstrak metanol *tobacco fines* non steril dan steril. Uji *Duncan* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan *mean* DDH ekstrak metanol *tobacco fines* antara variasi konsentrasi (50% dan 100%) dan kontrol yang digunakan.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil diantaranya adalah:

1. Maserasi *tobacco fines* menggunakan pelarut metanol menghasilkan ekstrak metanol berwarna hijau kehitaman dan bertekstur kental (*slurry*) sedangkan distilasi uap *tobacco fines* menghasilkan distilat minyak atsiri berwarna coklat pekat dan bertekstur kental. Rendemen ekstrak metanol sebesar 7,924 gram lebih besar dibandingkan distilat minyak atsiri yaitu sebesar 0,188 gram. Jumlah senyawa kimia penyusun ekstrak metanol *tobacco fines* yang teridentifikasi sebanyak 14 senyawa sedangkan pada distilat minyak atsiri sebanyak 42 senyawa. Kelimpahan senyawa terbesar pada ekstrak metanol berupa nikotin (30,24%) sedangkan pada distilat minyak atsiri berupa 1-oktadekuna (13,08%).
2. Ekstrak metanol *tobacco fines* konsentrasi 100% steril ( $9,0 \pm 0,0$  mm) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan distilat minyak atsiri *tobacco fines* konsentrasi 100% steril ( $6,0 \pm 0,0$  mm). Ekstrak metanol *tobacco fines* konsentrasi 100% ( $9,1 \pm 0,2$  mm (non steril) dan  $9,0 \pm 0,0$  mm (steril)) memiliki daya antibakteri *E. coli* lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol konsentrasi 50% ( $8,3 \pm 0,2$  mm (non steril) dan  $8,1 \pm 0,2$  mm (steril)). Sedangkan distilat minyak atsiri konsentrasi 100% dan 50% memiliki daya antibakteri *E. coli* yang sama yaitu sebesar  $6,0 \pm 0,0$  mm (steril dan non steril).

### 5.2 Saran

Ekstraksi senyawa kimia dari *tobacco fines* hendaknya juga dilakukan menggunakan pelarut non polar (misal n-heksana) yang dapat mengekstrak minyak atsiri sehingga dapat dibandingkan hasilnya dengan distilat minyak atsiri *tobacco fines* dengan metode distilasi uap.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelwahab, S. I., S. Mohan, M. Taha, W. Ahsan, M. A. Bratty, dan H. A. Alhazmi. 2019. Antidepressant effect of methanol extract of smokeless tobacco and identification of its bioactive components. *Tropical Journal of Pharmaceutical*. 18(5): 1084
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th Edition. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Badan Pusat Statistik. 2014. *Provinsi Jawa Timur dalam Angka*. Surabaya: BPS.
- Debbie, S. R. 1998. Mekanisme dan Deteksi Molekul Resistensi Antibiotik pada Bakteri, Jurusan Farmasi-ITB, Bandung.
- Derengowski, L. S., C. Silva, S. V. Braz, T. M. Sousa<sup>1</sup>, S. N. Bao, C. M. Kyaw dan I. Pereira. 2009. Antimicrobial effect of farnesol, a *Candida albicans* quorum sensing molecule, on *Paracoccidioides brasiliensis* growth and morphogenesis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 8:13.
- DerMarderosian, A. 2001. The review of natural products 2nd ed. facts and comparison. *Missouri*. Halaman 554-555.
- Eka, P. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tembakau Temanggung Varietas Genjah Kemloko. *Skripsi*. Bogor: ITB.
- Fathiazad F, A. Delazar, R. Amiri, dan S. D. Sarker. 2006. Extraction of flavonoids and quantification of rutin from waste tobacco leaves. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 3:222-227.
- Fellows, P.J. 2000. *Food Processing Technology. Principles and Practice 2nd ed.* England: Woodhead Publishing Ltd.
- Gabriel, J. F. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta : EGC



- Greenwood. 1995. *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemotherapy*. USA: Addison Westley Longman Inc.
- Hapsari, M. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Meniran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* Dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Hardjono. 1992. *Spektroskopi Inframerah Edisi Pertama*. Yogyakarta: Liberty.
- Haribi, R., dan Yusron K., 2010. Pemekrisaan *Escherichia coli* Pada Air Bak Wudhu 10 Masjid Di Kecamatan Tlogosari Semarang. *Jurnal Kesehatan*. Vol.3, No.1.
- Hendayana. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- Heyne. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia III Penerjemah : Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan*. Jakarta: Yayasan Sarana Wahajaya.
- Jabra, R., T. F. Meiller, C. E. James, dan M. E. Shirtliff. 2006. Effect of Farnesol on *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Antimicrobial Susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. Vol. 50, No. 4
- Jawetz, E., J. L. Melnick, dan E. A. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, E. B. Wasito, N. M. Mertaniasih, L. Harsono, dan Alimsardjono. Edisi XXII. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Karsinah, H. M. Lucky, Suharto, H. W. Mardiasuti. 1994. *Batang Negatif Gram*. Dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Editor Syahrurachman, A. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Khidyrova, N. K. dan K. M. Shakhidoyatov. 2002. Plant polyphenols and their biological activity. *Chem Nat Comp*. 38: 107-121.

- Lenny, S. 2006. *Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp*. Medan : USU
- Listari, Y. 2009. Efektifitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat *Streptomyces* dari *Rizosferfamilia poaceae* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal online*. PP.1.1–6.
- Machado, P.A., H. Fu, R. J. Kratochivl, Y. Yuan, T. S. Hahm, C. M. Sabliov, dan C. I. Wei. 2010. Recovery of solanesol from tobacco as a value added byproduct for alternative applications. *J Bioresources Technology*.
- Miall, S. 1940. *A New Dictionary of Chemistry*. London: Longmans Green.
- Miller, L. 1973. Phytochemistry organic metabolites van nostrand and reinbold company. *New York 2*: 382-384.
- Mirzoeva, O. K., R. N. Grishanin, P. C. Calder. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential, and motility of bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*. 152, 239-46.
- Murwani. 2015. *Dasar Dasar Mikrobiologi Veteriner*. Malang: Universitas Brawijaya Press (Up Press)
- Naidu, A. S. 2000. *Natural Foods Antimicrobial Systems*. Washington DC: CRC Press
- Nurnasari, E dan Subiyakto. 2011. Komposisi Kimia Minyak Atsiri Pada Beberapa Tipe Daun Tembakau (*Nicotiana Tabaccum L.*). *Berita Biologi*. Volume 10.
- Nychas, G. J. E dan C. C. Tassou. 2000. Traditional preservatives-oils and spices. Di dalam: Robinson, R. K., C. A. Batt, P. D. Patel. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Volume 1.

- Odonkor, S dan K. Joseph. 2013. Ampofo2 Escherichia coli as an indicator of bacteriological quality of water: an overview. *Microbiology Research*. Volume 4:12.
- Palic, R., G. Stojanovic, S. Alagic, M. Nikolic, dan Z. Lepojevic. 2002. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oil and CO<sub>2</sub> Extracts of Semi-orientl Tobacco Prilep. *Flavour Fragr J*. 17:323-326.
- Pelczar. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Podlejski, J. dan W. Olejniczak. 1983. Methods and techniques in research of tobacco flavour. *Nahrung* 27. 5:429-436.
- Pranowo, D. T., T. D. Apriyanto, Wahyuningsih, dan Suputra. 2011. *Pemanfaatan Ekstrak Daun Tembakau Dan Daun Selasih Sebagai Insect Ovipositing Repellent Terhadap Lalat Buah Bactrocera*. Yogyakarta: UGM.
- Reynaldo, D.L.C., C. Catalina, H. Marcela, R. Raul, dan H. Daniel. 2011. Antagonist capacity of newly isolated strains of *Pseudomonas fluorescens* against three important phytopathogenic bacteria. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 6(2): 267-272.
- Robinson. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB.
- Salle. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi*. 5th ed. New York: MC Graw Hill Book Company Inc.
- Setiati, Suminar. 2001. *Prinsip – prinsip Kimia Modern*. Edisi 4 Jilid 1 (Terjemahan dari Principles of Modern Chemistry, karangan : David W. Oxtoby, HP. Gills, Norman H. Nachtrieb), Editor: Silvester Lemeda Simarmata. Jakarta: Erlangga.
- Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal 2 Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University Press.

- Soetarno. 1990. *Terpenoid*. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB.
- Sri dan Suyanti. 2012. *Panduan Lengkap Minyak Atsiri*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Stojanovic, G., R. Palic, S. Alagic, dan Z. Zekovic. 2000. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil and CO<sub>2</sub> extracts of Semi-oriental Tobacco, Oltja. *Flavour Fragr J.* 15:335-338.
- Subandi. 2010. *Kimia Organik*. Yogyakarta: Dee Publish
- Sudaryanti, T dan E. Sugiharti. 1990. *Budidaya dan Penyulingan Nilam*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suharyono. 2008. *Diare Akut Klinik dan Laboratorik*. Rhineka Cipta, Jakarta.
- Susilowasti, E. 2006. Identifikasi Nikotin dari Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Kering dan Uji Efektifitas Ekstrak Daun Tembakau sebagai Insektisida Penggerak Batang Padi (*Scripophaga Innonata*). *Skripsi*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Tirtosastro, S. dan A.S. Murdiyati. 2009. *Kandungan Kimia Tembakau Dan Rokok*. Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri 2(1), April 2010:33-43 ISSN: 2085-6717.
- Tirtosastro, S. dan A.S. Murdiyati. 2011. *Pengolahan Daun Tembakau dan Dampaknya Terhadap Lingkungan*. Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri 3(2), Oktober 2011:80-88 ISSN: 2085-6717.
- Wax, G. R., K. Lewis, A. Salyer, dan H. Taber. 2008. *Bacterial Resistance to Antimicrobials*. Second Edition. London: CRC Press.
- Wesolowska, A., Jadcak, D., dan Grzeszczuk, M. 2010. Influence of Distillation Time on The Content and Composition of Essential Oil Isolated from Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). *Kerva Polonica*. 56(3): 24-35.

Widodo. 2018. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal Isolasi Sampai Aplikasi Sebagai Probiotik Dan Starter Fermentasi Susu*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Wulandari, U. 2018. *Profil Kandungan Minyak Atsiri Daun Tembakau (Nicotiana tabacum L.) Na oogst Jember Sebelum dan Setelah Fermentas*. Skripsi. Jember: Universitas Jember.





## LAMPIRAN

## Lampiran 4. 1 Keterangan Jenis Limbah Tembakau

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI/VALIDASI****No. 004/AGR/MDR/10/2018**

Kepala/Direktur PT. Mangli Djaya Raya dengan ini menerangkan bahwa material daun tembakau yang dibawa oleh :

Nama : Nindi Listia Kholidah

NIM : 141810301036

Institusi asal : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember

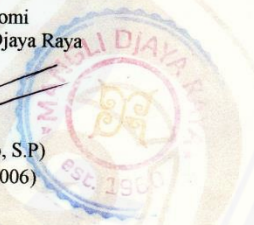
pada tanggal ... 8 Oktober 2018, telah diidentifikasi/divalidasi berdasarkan uji varietas benih PT MDR sesuai ISO 9001:2015 MDR-AGR-PK-001, adalah jenis Limbah tembakau fines Naoogst merupakan hasil samping produksi tembakau.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 16 Oktober 2018


Divisi Agronomi  
PT. Mangli Djaya Raya

(Dian Haruno, S.P)  
(NIP. 020810006)

**MDR Building Complex**

Jl. Mayjen. D.I. Panjaitan No. 99, Petung, Bangsal Sari  
Jember 68154, East Java, Indonesia – P.O. Box 118  
Phone: +62331 486656, 711866, 711984 | Fax: +62331 481757  
E-mail: info@ptmdr.co.id | Website: www.ptmdr.co.id

## Lampiran 4. 2 Keterangan Jenis Bakteri




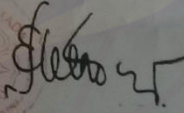
UNIVERSITAS GADJAH MADA  
PUSAT STUDI PANGAN DAN GIZI  
Alamat: Gedung PAU-UGM, Jalan Teknika Utara, Berek, Yogyakarta 55281, Phone/Fax. (0274) 589242  
http://cfns.ugm.ac.id, E-mail. cfns@ugm.ac.id

**SERTIFIKAT MIKROBIA**  
**PSPG-UGM/FNCC/14/II/2019**

***Escherichia coli* FNCC 0091**

Bentuk sel	: Batang
Pengecatan gram	: Negatif
Susunan sel	: tunggal
Kebutuhan oksigen	: aerob
Motilitas	: Tidak motil (tidak bergerak)
Pembentukan Spora	: Tidak (negatif)
Katalase	: Positif
Tes indole	: Positif
pH optimum	: 7
Suhu Optimum	: 37°C
Pathologi	: Pathogen

Yogyakarta, 7 Februari 2019  
Kurator FNCC



Prof. Dr. Ir. Endang S. Rahayu

**Lampiran 4. 3 Perhitungan Kadar Air Tobacco Fines**

Massa Cawan Petri	Massa Tobacco <i>fines</i> Awal	Massa Tobacco <i>fines</i> Akhir	Massa Air	Kadar Air (%)
61,793 gram	2,000 gram	1,807 gram	0,193 gram	9,660%
61,792 gram	2,000 gram	1,808 gram	0,192 gram	9,620%
61,792 gram	2,000 gram	1,808 gram	0,192 gram	9,580%
	Kadar air rata-rata			9,620%
	Standar Deviasi			0,045

## - Perhitungan Kadar Air

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Massa air}}{\text{massa sampel awal}} \times 100\%$$

$$1. \text{ Kadar air (\%)} = \frac{0,193 \text{ gram}}{2,000 \text{ gram}} \times 100\% = 9,660\%$$

$$2. \text{ Kadar air (\%)} = \frac{0,192 \text{ gram}}{2,000 \text{ gram}} \times 100\% = 9,620\%$$

$$3. \text{ Kadar air (\%)} = \frac{0,192 \text{ gram}}{2,000 \text{ gram}} \times 100\% = 9,580\%$$

$$\text{Kadar air rata-rata (\%)} = \frac{9,660\% + 9,620\% + 9,580\%}{3} = 9,620\%$$

## - Perhitungan Standar Deviasi

$$\sum_{i=1}^n xi = 9,660 + 9,620 + 9,580 = 28,860$$

$$\sum_{i=1}^n xi^2 = (9,660)^2 + (9,620)^2 + (9,580)^2 = 277,636$$

$$(\sum_{i=1}^n xi)^2 = (28,860)^2 = 832,900$$

$$S^2 = \frac{(n) \cdot (\sum_{i=1}^n xi^2) - (\sum_{i=1}^n xi)^2}{(n) \cdot (n-1)}$$

$$S^2 = \frac{(3) \cdot 277,636 - 832,900}{(3) \cdot (3-1)} = 0,002$$

$$S = \sqrt{0,002} = 0,045$$

## - Perhitungan massa kering tobacco fines

Massa tobacco fines untuk maserasi sebesar 100 gram

$$\begin{aligned} \text{Massa kering tobacco fines untuk maserasi} &= 100 \text{ gram} - \left(\frac{9,620}{100} \times 100 \text{ gram}\right) \\ &= 100 \text{ gram} - 9,620 \text{ gram} \\ &= 90,380 \text{ gram} \end{aligned}$$

Massa tobacco fines untuk distilasi uap sebesar 150 gram

$$\begin{aligned} \text{Massa kering tobacco fines untuk distilasi uap} &= 150 \text{ gram} - \left(\frac{9,620}{100} \times 150 \text{ gram}\right) \\ &= 150 \text{ gram} - 14,430 \text{ gram} \\ &= 135,570 \text{ gram} \end{aligned}$$

**Lampiran 4. 4 Perhitungan Rendemen Tobacco Fines**

Metode Ekstraksi	Massa hasil ekstraksi (gram)	Rendemen (%)	Rata-rata Rendemen (%)	Standar Deviasi
Maserasi	6,957	7,697	7,924	0,259
	7,112	7,869		
	7,417	8,206		
Distilasi Uap	0,283	0,209	0,188	0,032
	0,231	0,170		
	0,249	0,184		

## - Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Massa ekstrak metanol (gram)}}{\text{Masaa tobacco fines kering (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen M1 (\%)} = \frac{6,957 \text{ gram}}{90,380 \text{ gram}} \times 100\% = 7,697\%$$

$$\text{Rendemen M2 (\%)} = \frac{7,112 \text{ gram}}{90,380 \text{ gram}} \times 100\% = 7,869\%$$

$$\text{Rendemen M3 (\%)} = \frac{7,417 \text{ gram}}{90,380 \text{ gram}} \times 100\% = 8,206\%$$

$$\text{Rendemen Rata-Rata (\%)} = \frac{7,697\% + 7,869\% + 8,206\%}{3} \times 100\% = 7,924\%$$

Keterangan:

Rendemen M1 = Rendemen Maserasi Pengulangan 1

Rendemen M2 = Rendemen Maserasi Pengulangan 2

Rendemen M3 = Rendemen Maserasi Pengulangan 3

## - Perhitungan Standar Deviasi

$$\sum_{i=1}^n xi = 7,697 + 7,869 + 8,206 = 23,772$$

$$\sum_{i=1}^n xi^2 = (7,697)^2 + (7,869)^2 + (8,206)^2 = 188,503$$

$$(\sum_{i=1}^n xi)^2 = (23,772)^2 = 565,108$$

$$S^2 = \frac{(n) \cdot (\sum_{i=1}^n xi^2) - ((\sum_{i=1}^n xi)^2)}{(n) \cdot (n-1)}$$

$$S^2 = \frac{(3) \cdot 188,503 - 565,108}{(3) \cdot (3-1)} = 0,067$$

$$S = \sqrt{0,067} = 0,259$$



- Perhitungan Rendemen Hasil Distilasi Uap

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Massa minyak atsiri (gram)}}{\text{Masaa tobacco fines kering (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen D1 (\%)} = \frac{0,283 \text{ gram}}{135,570 \text{ gram}} \times 100\% = 0,209\%$$

$$\text{Rendemen D2 (\%)} = \frac{0,231 \text{ gram}}{135,570 \text{ gram}} \times 100\% = 0,170\%$$

$$\text{Rendemen D3 (\%)} = \frac{0,249 \text{ gram}}{135,570 \text{ gram}} \times 100\% = 0,184\%$$

$$\text{Rendemen Rata-Rata (\%)} = \frac{0,209\% + 0,170\% + 0,184\%}{3} \times 100\% = 0,188\%$$

Keterangan:

Rendemen D1 = Rendemen Distilasi Uap Pengulangan 1

Rendemen D2 = Rendemen Distilasi Uap Pengulangan 2

Rendemen D3 = Rendemen Distilasi Uap Pengulangan 3

- Perhitungan Standar Deviasi

$$\sum_{i=1}^n xi = 0,209 + 0,170 + 0,184 = 0,763$$

$$\sum_{i=1}^n xi^2 = (0,209)^2 + (0,170)^2 + (0,184)^2 = 0,195$$

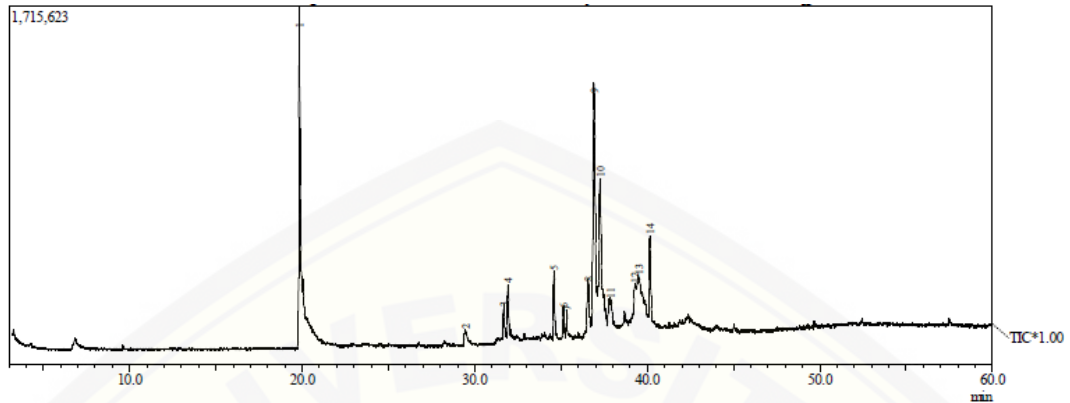
$$(\sum_{i=1}^n xi)^2 = (0,763)^2 = 0,582$$

$$S^2 = \frac{(n) \cdot (\sum_{i=1}^n xi^2) - ((\sum_{i=1}^n xi)^2)}{(n) \cdot (n-1)}$$

$$S^2 = \frac{(3) \cdot 0,195 - 0,582}{(3) \cdot (3-1)} = 0,001$$

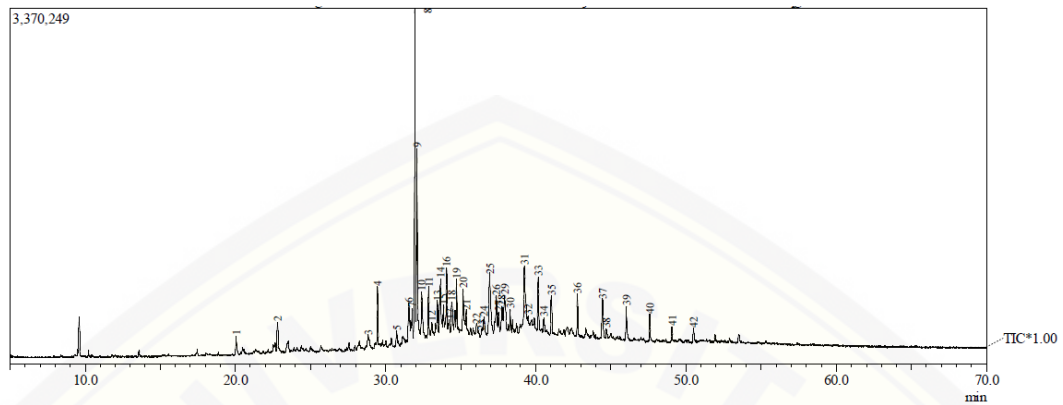
$$S = \sqrt{0,001} = 0,032$$



Lampiran 4.5 Kromatogram Senyawa Penyusun Ekstrak Metanol *Tobacco**Fines*

Peak#	R. Time	I. Time	F. Time	Area	Area%	Height
1	19.854	19.742	21.017	16413871	30.24	1523408
2	29.483	29.317	29.767	809937	1.49	68184
3	31.695	31.592	31.867	908137	1.67	155549
4	31.942	31.867	32.042	1001208	1.84	228503
5	34.618	34.542	34.917	1478822	2.72	314108
6	35.164	35.067	35.242	647424	1.19	146366
7	35.349	35.242	35.517	586555	1.08	122521
8	36.597	36.367	36.742	2116729	3.90	244060
9	36.938	36.742	37.092	10668514	19.65	1168734
10	37.290	37.092	37.692	8660343	15.95	724212
11	37.901	37.692	38.242	2279410	4.20	139608
12	39.292	39.092	39.392	1620566	2.99	166645
13	39.512	39.392	40.092	4996221	9.20	211275
14	40.167	40.092	40.417	2098631	3.87	380084
				54286368	100.00	5593257

Lampiran 4. 6 Kromatogram Senyawa Penyusun Distilat Minyak Atsiri Tobacco Fines



Peak#	R. Time	I. Time	F. Time	Area	Area%	Height
1	20.069	19.958	20.225	839699	0.93	169113
2	22.817	22.742	23.008	1135140	1.26	256060
3	28.852	28.725	29.075	924247	1.03	108204
4	29.474	29.342	29.575	1944747	2.16	550833
5	30.740	30.625	30.942	1010147	1.12	140847
6	31.558	31.442	31.642	2241166	2.49	361596
7	31.775	31.642	31.858	2051598	2.28	296922
8	31.953	31.858	32.008	11792800	13.08	3086431
9	32.093	32.008	32.308	8807741	9.77	1768206
10	32.410	32.308	32.642	3135170	3.48	449683
11	32.872	32.642	32.975	2149710	2.38	473662
12	33.092	32.975	33.258	980008	1.09	126938
13	33.456	33.258	33.542	2235512	2.48	326071
14	33.657	33.542	33.792	3559532	3.95	525082
15	33.869	33.792	33.925	1250427	1.39	256631
16	34.069	33.925	34.142	3274379	3.63	588541
17	34.242	34.142	34.308	726054	0.81	120654
18	34.408	34.308	34.558	2043102	2.27	278785
19	34.728	34.558	34.808	2294803	2.55	454481
20	35.170	35.042	35.308	2272411	2.52	390647
21	35.375	35.308	35.575	1073182	1.19	205074
22	36.042	35.942	36.325	873053	0.97	96484
23	36.375	36.325	36.475	467499	0.52	45198
24	36.568	36.475	36.742	1269974	1.41	173269
25	36.944	36.742	37.175	5199726	5.77	583993
26	37.364	37.175	37.458	2738109	3.04	365820
27	37.535	37.458	37.642	1269043	1.41	210169
28	37.746	37.642	37.842	1901651	2.11	253171
29	37.936	37.842	38.108	2839105	3.15	345883
30	38.308	38.108	38.392	1184756	1.31	215996
31	39.248	39.058	39.425	4274008	4.74	556592
32	39.492	39.425	39.625	419318	0.47	79547
33	40.168	40.075	40.325	2467619	2.74	488001
34	40.541	40.325	40.675	733034	0.81	128270
35	41.042	40.958	41.125	1361515	1.51	358544
36	42.775	42.675	42.925	1547624	1.72	394559
37	44.441	44.342	44.625	1699808	1.89	365822
38	44.708	44.625	44.825	394900	0.44	86292
39	46.040	45.925	46.225	1501860	1.67	322646
40	47.583	47.508	47.758	1110934	1.23	243994
41	49.069	48.942	49.208	632049	0.70	135454
42	50.507	50.392	50.608	539434	0.60	129086
				90166594	100.00	16513251

Lampiran 4. 7 Senyawa Penyusun Ekstrak Metanol *Tobacco Fines*

No	R.Time	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa (%)	SI
1	19.854	Nikotin ( <b>1</b> )	30.24	92
2	29.483	2-t-butilsikloheksanon ( <b>6</b> )	1.49	73
3	31.695	Isopropil miristat ( <b>9</b> )	1.67	95
4	31.942	1-oktadekuna ( <b>11</b> )	1.84	89
5	34.618	1-(2-metilena-3-butenil)-1-(1-metilenepropil)siklopropana ( <b>13</b> )	2.72	80
6	35.164	2,3,6,7-tetrametil-1,4,4a,5,8,8a,9,9a,10,10a-dekahidroantrasen-9-ol ( <b>22</b> )	1.19	80
7	35.349	Asam 6,9-oktadekadienoat metil ester ( <b>24</b> )	1.08	78
8	36.597	Retinol asetat ( <b>26</b> )	3.90	79
9	36.938	17-asetoksi-19-kauranal ( <b>30</b> )	19.65	82
10	37.290	(2R,3S)-4-Metil-2-(benziloksimetil)-2,3-epoksi-1-pentanol ( <b>32</b> )	15.95	81
11	37.901	Roridin E ( <b>36</b> )	4.20	77
12	39.292	8,9-dihidroksi-1,1,3,6,9-pentametil-4-oksododekahidro-1H-4a,7a-epoksisiklopenta[a]siklopropa[f][11]anulena-2,7,10,11-tetraail tetraasetat ( <b>40</b> )	2.99	75
13	39.512	Nerolidol-epoksiasetat ( <b>42</b> )	9.20	79
14	40.167	2-metil-3-oksoestran-17-il asetat ( <b>43</b> )	3.87	84

Keterangan:

Angka bercetak tebal: Kode struktur senyawa (Lampiran 4.11)

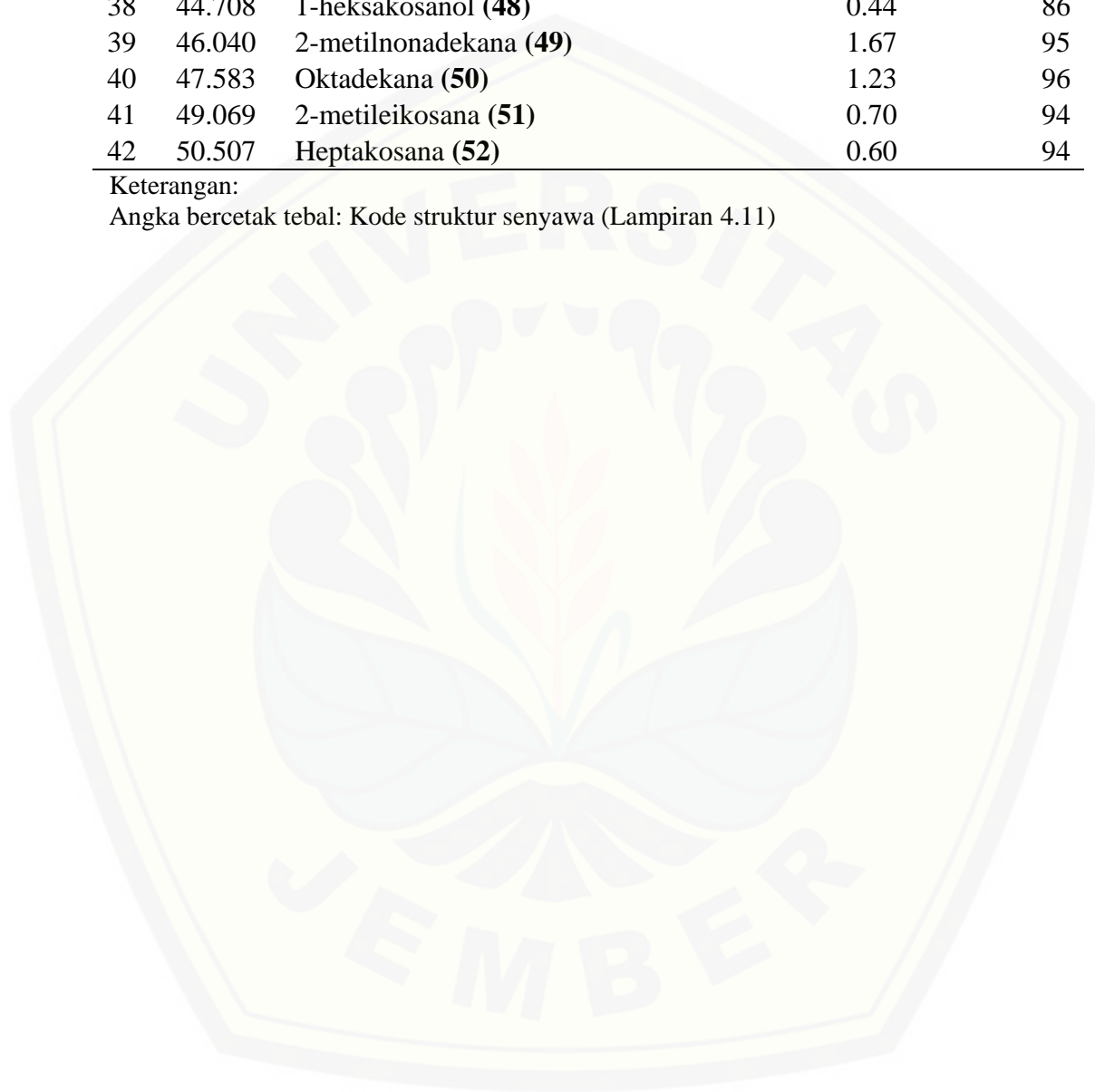
Lampiran 4. 8 Senyawa Penyusun Distilat Minyak Atsiri *Tobacco Fines*

No	R.Time	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa %	SI
1	20.069	Solanon (2)	0.93	89
2	22.817	4,5-dimetil-2-undekena (3)	1.26	86
3	28.852	1-klorotetradekana (4)	1.03	83
4	29.474	<i>cis</i> -3-tetradekena (5)	2.16	92
5	30.740	Dodekenil suksinat anhidrat (7)	1.12	82
6	31.558	Alpha-muurolena (8)	2.49	80
7	31.775	8-metil-1-dekena (10)	2.28	86
8	31.953	1-oktadekuna (11)	13.08	91
9	32.093	6,10-dimetil-2-undekanon (12)	9.77	92
10	32.410	Asam 6,9-oktadekadienot metil ester (13)	3.48	78
11	32.872	3,7,11,15-tetrametil-2-heksadeken-1-ol (14)	2.38	89
12	33.092	Farnesil aseton (15)	1.09	82
13	33.456	2,3,5,8-tetrametil-1,5,9-dekatriena (16)	2.48	88
14	33.657	Farsenol (17)	3.95	92
15	33.869	Asam oktadekanoat metil ester (18)	1.39	85
16	34.069	Kembrena (19)	3.63	89
17	34.242	Siklododekena epoksida (20)	0.81	87
18	34.408	1-metoksi-9-oktadekena (21)	2.27	84
19	34.728	(R)-(-)-m-ment-1(7)-ena (23)	2.55	85
20	35.170	2,3,6,7-tetrametil-1,4,4a,5,8,8a,9,9a,10,10a-dekahidroantrasen-9-ol (24)	2.52	84
21	35.375	Heksadekana (25)	1.19	93
22	36.042	Patchulana (26)	0.97	81
23	36.375	Dehidroaromadendrena (27)	0.52	63
24	36.568	1-klorodekana (28)	1.41	80
25	36.944	Kariofilen oksida (31)	5.77	84
26	37.364	1-klorooktadekana (33)	3.04	87
27	37.535	1,4-dimetil-5-oktil-naftalena (34)	1.41	69
28	37.746	d-Ledol (35)	2.11	81
29	37.936	13(16)14-labdien-8-ol (37)	3.15	84
30	38.308	Oktadekanal (38)	1.31	89
31	39.248	4-metil-1-undekena (39)	4.74	84
32	39.492	Tetradesil oksiran (41)	0.47	81
33	40.168	2-metil-3-oksoestran-17-il asetat (43)	2.74	84
34	40.541	N-metil-N-4-4-metoksi-1-heksahidropiridil-2-butunil-acetamida (44)	0.81	82

No	R.Time	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa %	SI
35	41.042	Heksakosana ( <b>45</b> )	1.51	96
36	42.775	Eikosana ( <b>46</b> )	1.72	96
37	44.441	Dotriakontana ( <b>47</b> )	1.89	95
38	44.708	1-heksakosanol ( <b>48</b> )	0.44	86
39	46.040	2-metilnonadekana ( <b>49</b> )	1.67	95
40	47.583	Oktadekana ( <b>50</b> )	1.23	96
41	49.069	2-metileikosana ( <b>51</b> )	0.70	94
42	50.507	Heptakosana ( <b>52</b> )	0.60	94

Keterangan:

Angka bercetak tebal: Kode struktur senyawa (Lampiran 4.11)





**Lampiran 4. 9 Perbandingan Senyawa Penyusun Hasil Ekstraksi *Tobacco Fines* Menggunakan Dua Metode Ekstraksi**

No.	R. Time	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa (%)	
			Maserasi	Distilasi Uap
1	19.854	Nikotin (1)	30.24	-
2	20.069	Solanon (2)	-	0.93
3	22.817	4,5-dimetil-2-undekena (3)	-	1.26
4	28.852	1-klorotetradekana (4)	-	1.03
5	29.474	<i>cis</i> -3-tetradekena (5)	-	2.16
6	29.483	2-t-butilsikloheksanon (6)	1.49	-
7	30.740	Dodekenil suksinat anhidrat (7)	-	1.12
8	31.558	Alpha-muurolena (8)	-	2.49
9	31.695	Isopropil miristat (9)	1.67	-
10	31.775	8-metil-1-dekena (10)	-	2.28
11	31.953	1-oktadekuna (11)	1.84	13.08
12	32.093	6,10-dimetil-2-undekanon (12)	-	9.77
13	32.872	Asam 6,9-oktadekadienot metil ester (13)	1.08	3.48
14	33.092	3,7,11,15-tetrametil-2-heksadeken-1-ol (14)	-	2.38
15	33.456	Farnesil aseton (15)	-	1.09
16	33.657	2,3,5,8-tetrametil-1,5,9-dekatriena (16)	-	2.48
17	33.869	Farnesol (17)	-	3.95
18	34.069	Asam oktadekanoat metil ester (18)	-	1.39
19	34.242	Kembrena (19)	-	3.63
20	34.408	Siklododekena epoksida (20)	-	0.81
21	34.618	1-metoksi-9-oktadekena (21)	-	2.27
22	34.728	1-(2-metilena-3-butenil)-1-(1-metilenepropil)siklopropana (22)	2.72	-
23	35.170	(R)-(-)-m-menth-1(7)-ena (23)	-	2.55
24	35.349	2,3,6,7-tetrametil-1,4,4a,5,8,8a,9,9a,10,10a-dekahidroanthrasen-9-ol (24)	1.19	2.52

No.	R. Time	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa (%)	
			Maserasi	Distilasi Uap
25	35.375	Heksadekana (25)	-	1.19
26	36.042	Patchulana (26)	-	0.97
27	36.375	Dehidroaromadendrena (27)	-	0.52
28	36.568	1-klorodekana (28)	-	1.41
29	36.597	Retinol asetat (29)	3.90	-
30	36.938	17-asetoksi-19-kauranal (30)	19.65	-
31	36.944	Kariofilen oksida (31)	-	5.77
32	37.290	(2R,3S)-4-metil-2-(benziloksimetil)-2,3-epoksi-1-pentanol (32)	15.95	-
33	37.364	1-klorooktadekana (33)	-	3.04
34	37.535	1,4-dimetil-5-oktil-naftalena (34)	-	1.41
35	37.746	d-Ledol (35)	-	2.11
36	37.901	Roridin E (36)	4.20	-
37	37.936	13(16)14-labdien-8-ol (37)	-	3.15
38	38.308	Oktadekanal (38)	-	1.31
39	39.248	4-metil-1-undekena (39)	-	4.74
40	39.292	8,9-dihidroksi-1,1,3,6,9-pentametil-4-oksododekahidro-1H-4a,7a-epoksisiklopenta[a]siklopropa[f][11]anulena-2,7,10,11-tetraasetat(40)	2.99	-
41	39.492	Tetradesil oksiran (41)	-	0.47
42	39.512	Nerolidol-epoksiasetat (42)	9.20	-
43	40.167	2-metil-3-oksoestran-17-il asetat (43)	3.87	2.74
44	40.541	N-metil-N-4-4-metoksi-1-heksahidropiridil-2-butunil-acetamida (44)	-	0.81
45	41.042	Heksakosana (45)	-	1.51
46	42.775	Eikosana (46)	-	1.72
47	44.441	Dotriakontana (47)	-	1.89
48	44.708	1-heksakosanol (48)	-	0.44
49	46.040	2-metilnonadekana (49)	-	1.67

No.	R. Time	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa (%)	
			Maserasi	Distilasi Uap
50	47.583	Oktadekana ( <b>50</b> )	-	1.23
51	49.069	2-metileikosana ( <b>51</b> )	-	0.70
52	50.507	Heptakosana ( <b>52</b> )	-	0.60

Keterangan:

Angka bercetak tebal: Kode struktur senyawa (Lampiran 4.11)

Maserasi : menghasilkan ekstrak metanol

Distilasi uap : menghasilkan distilat minyak atsiri

**Lampiran 4. 10 Senyawa Mayor Penyusun Hasil Ekstraksi *Tobacco Fines***

No	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa (%)	
		Maserasi	Distilasi Uap
1	Nikotin ( <b>1</b> )	30.24	—
2	17-asetoksi-19-kauranal ( <b>30</b> )	19.65	—
3	(2R,3S)-4-Metil-2-(benziloksimetil)-2,3-epoksi-1-pentanol ( <b>32</b> )	15.95	—
4	1-oktadekuna ( <b>11</b> )	—	13.08
5	6,10-dimetil-2-undekanon ( <b>12</b> )	—	9.77
6	Nerolidol-epoksiasetat ( <b>42</b> )	9.20	—
7	Kariofilen oksida ( <b>31</b> )	—	5.77
8	4-metil-1-undekena ( <b>39</b> )	—	4.74
9	Roridin E ( <b>36</b> )	4.20	—
10	Farsenol ( <b>17</b> )	—	3.95

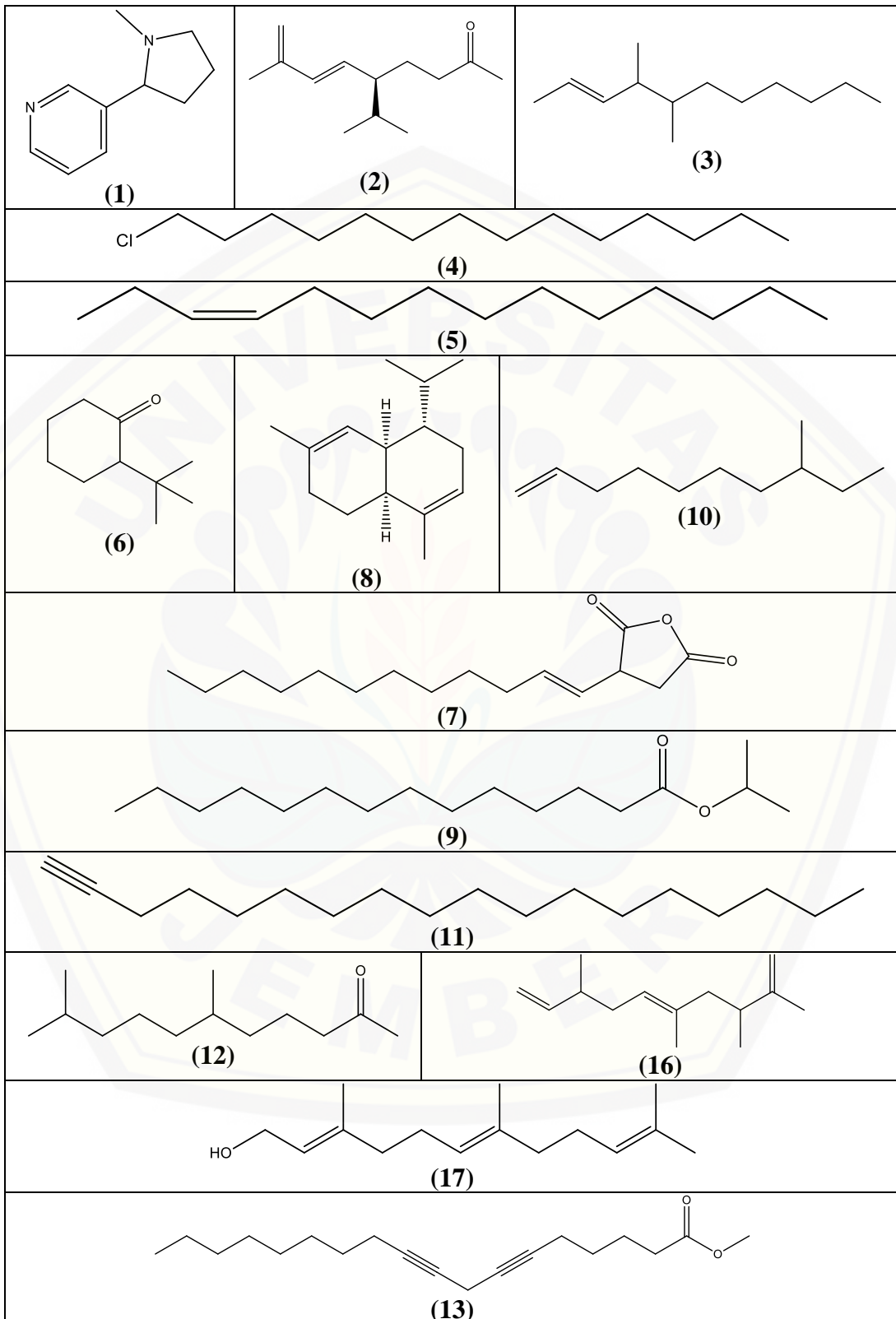
Keterangan:

Angka bercetak tebal : Kode struktur senyawa (Lampiran 4.11)

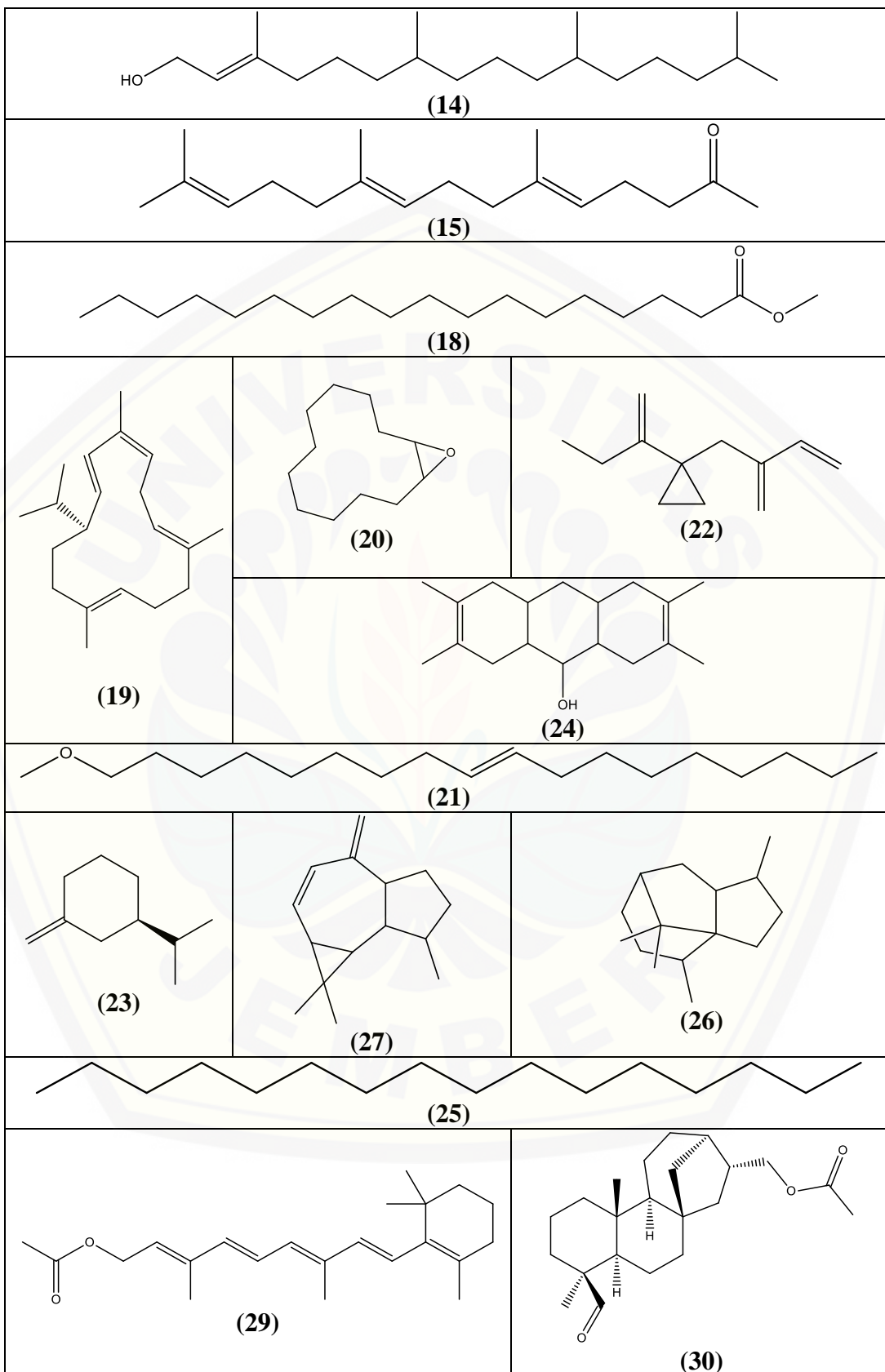
Maserasi : menghasilkan ekstrak metanol

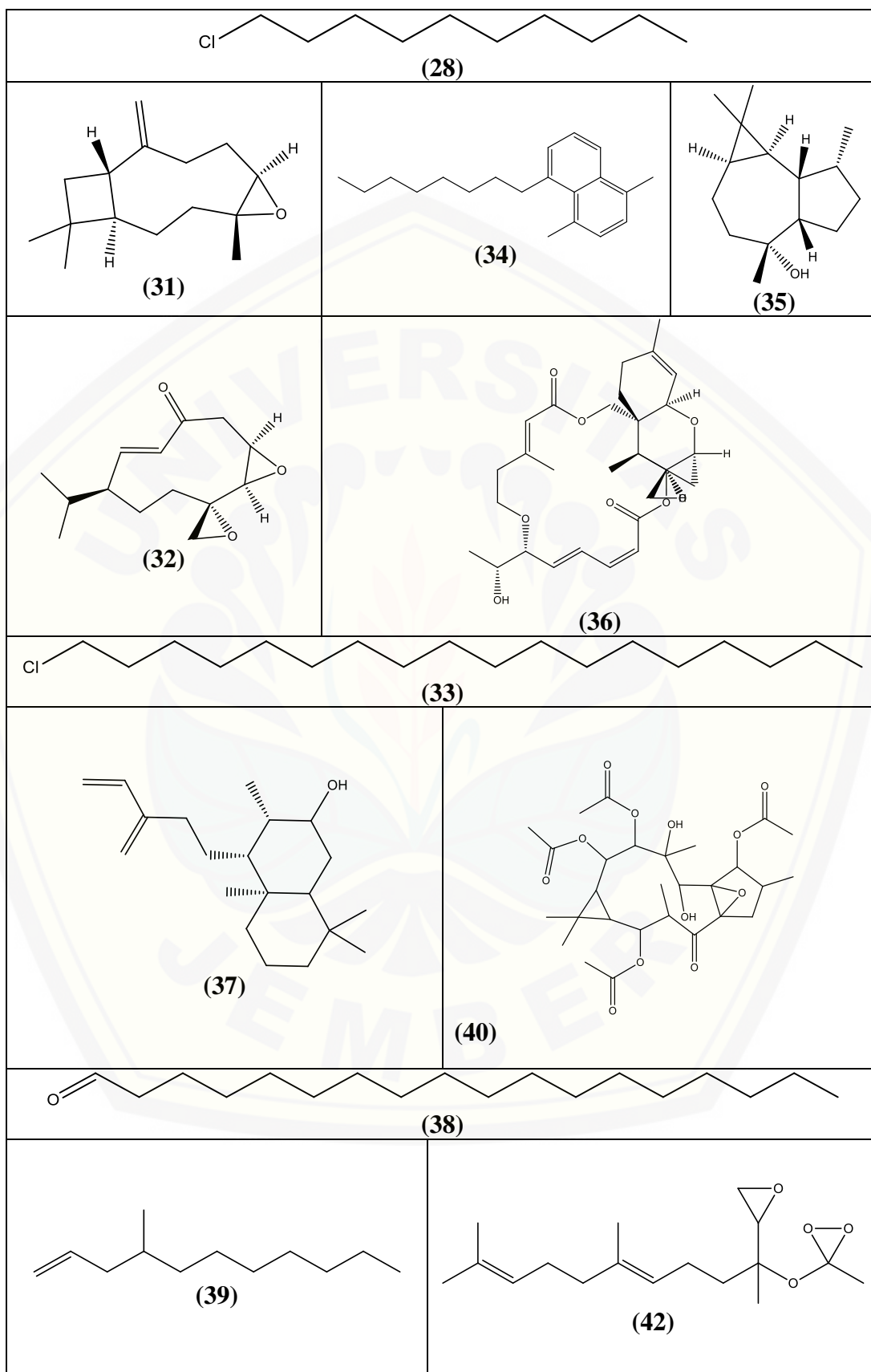
Distilasi uap : menghasilkan distilat minyak atsiri

Lampiran 4. 11 Struktur Senyawa Penyusun Hasil Ekstraksi *Tobacco Fines*





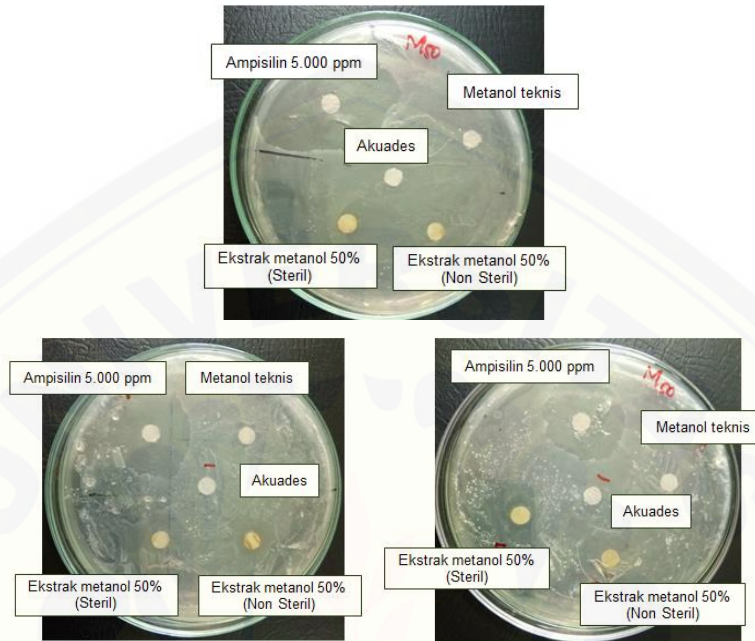




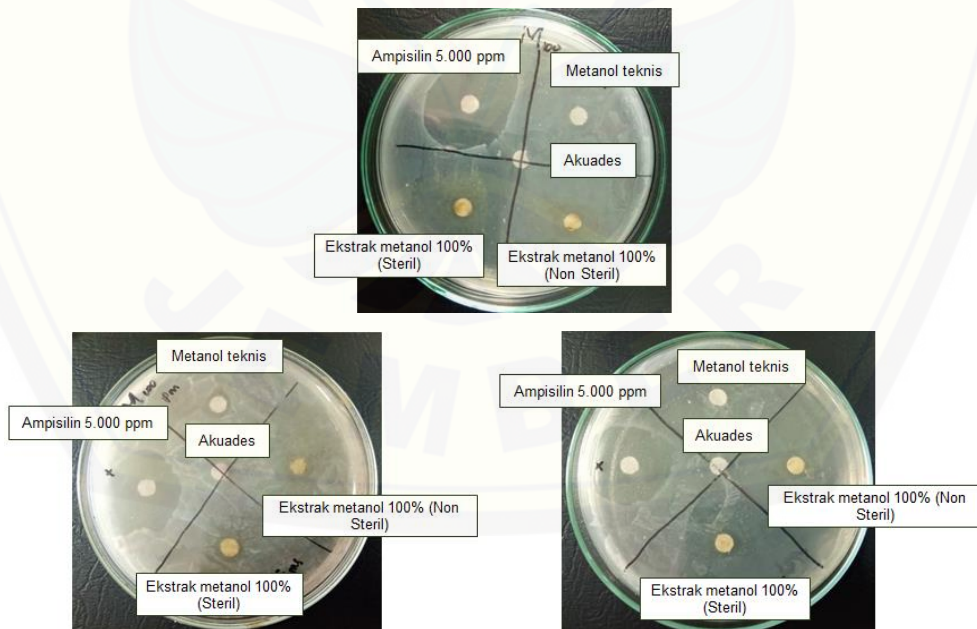


**Lampiran 4. 12 Gambar Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Metanol *Tobacco Fines***

- Ekstrak Metanol *Tobacco Fines* Konsentrasi 50%

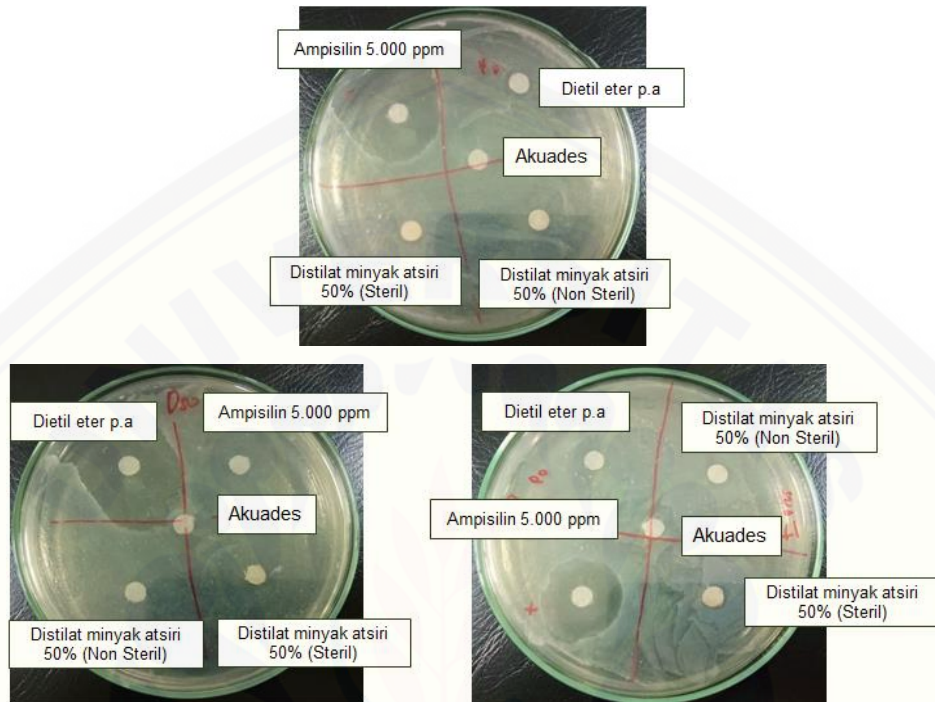


- Ekstrak Metanol *Tobacco Fines* Konsentrasi 100%

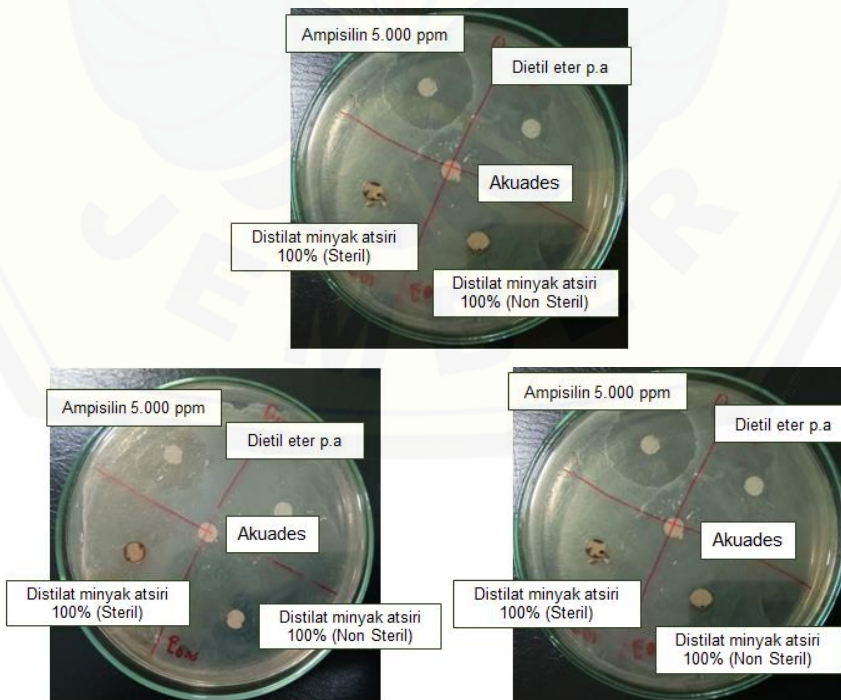


**Lampiran 4. 13 Gambar Hasil Uji Antibakteri Distilat Minyak Atsiri Tobacco Fines**

**- Distilat Minyak Atsiri Konsentrasi 50%**



**- Distilat Minyak Atsiri Konsentrasi 100%**





**Lampiran 4. 14 Pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) Hasil Ekstraksi  
*Tobacco Fines***

No	Metode Ekstraksi	DDH hasil ekstraksi <i>tobacco fines</i> pada <i>E. coli</i> (mm)*	
		Non Steril	Steril
1	Maserasi		
	konsentrasi 50%	8	8
		8,4	8,4
		8,4	8
	konsentrasi 100%	9,4	9
		9	9
9		9	
2	Distilasi Uap		
	konsentrasi 50%	6	6
		6	6
		6	6
	konsentrasi 100%	6	6
		6	6
6		6	
3	Kontrol Negatif Akuades	0	0
		0	0
		0	0
4	Kontrol positif Ampisilin	28,4	28,4
		28	28
		27,8	27,8
5	Kontrol Pelarut		
	Dietil eter	6	6
		6	6
		6	6
	Metanol	7	7
		7	7
7		7	

Keterangan:

Tanda \* = rata-rata hasil 5 kali pengukuran diameter zona bening pada Lampiran 4.13

**Lampiran 4. 15 Data Uji Statistika DDH Estrak Metanol Tobacco Fines Terhadap Pertumbuhan E. Coli**

- Data Uji Two Way Anova menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistics 22.0

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: DDH Ekstrak Metanol

Ekstrak	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
Konsentrasi 50%	Non Steril	8,26667	,230940	3
	Steril	8,13333	,230940	3
	Total	8,20000	,219089	6
Konsentrasi 100%	Non Steril	9,13333	,230940	3
	Steril	9,00000	,000000	3
	Total	9,06667	,163299	6
Metanol	Non Steril	7,00000	,000000	3
	Steril	7,00000	,000000	3
	Total	7,00000	,000000	6
Akuades	Non Steril	,00000	,000000	3
	Steril	,00000	,000000	3
	Total	,00000	,000000	6
Ampisilin	Non Steril	28,06667	,305505	3
	Steril	28,06667	,305505	3
	Total	28,06667	,273252	6
Total	Non Steril	10,49333	9,688835	15
	Steril	10,44000	9,699249	15
	Total	10,46667	9,525477	30

- Data Uji Lanjut *Independent T Test* perbandingan ekstrak metanol non steril dan steril konsentrasi 50% menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistics 22.0

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
DDH									
Equal variances assumed	,000	1,000	,707	4	,519	,133333	,188562	-,390198	,656865
Equal variances not assumed			,707	4,000	,519	,133333	,188562	-,390198	,656865

Keterangan:

- Nilai *Sig. Levene's Test for Equality of Variances*  $1,000 > 0,05$  = varian data antara Kelompok Non Steril dan Steril adalah homogen atau sama -> data yang digunakan ***Equal variances assumed***
- Nilai *Sig. (2-tailed)*  $0,519 > 0,05$  = tidak signifikan/ tidak beda nyata. Tidak ada perbedaan antara Kelompok Non Steril dan Steril.

- Data Uji Lanjut *Independent T Test* perbandingan ekstrak metanol non steril dan steril konsentrasi 100% menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics 22.0*

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
DDH	Equal variances assumed	16,000	,016	1,000	4	,374	,133333	,133333	-,236859	,503526
	Equal variances not assumed			1,000	2,000	,423	,133333	,133333	-,440354	,707020

Keterangan:

- Nilai *Sig. Levene's Test for Equality of Variances*  $0,016 < 0,05$  = varians data antara Kelompok Non Steril dan Steril adalah homogen atau sama -> data yang digunakan ***Equal variances not assumed***
- Nilai *Sig. (2-tailed)*  $0,423 > 0,05$  = tidak signifikan/ tidak beda nyata. tidak ada perbedaan antara Kelompok Non Steril dan Steril.

- Data Uji Lanjut Duncan ekstrak metanol konsentrasi 50% dan 100% Maserasi Non Steril menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics 22.0*

#### DDH Ekstrak Metanol Non Steril

Duncan

Non Steril	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Akuades	3	,00000 (a)	7,00000 (b)	8,26667 (c)	9,13333 (d)	28,06667 (e)
Metanol	3					
Konsentrasi 50%	3					
Konsentrasi 100%	3					
Ampisilin	3					
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

- Data Uji Lanjut Duncan ekstrak metanol konsentrasi 50% dan 100% Maserasi Non Steril menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics 22.0*

#### DDH Ekstrak Metanol Steril

Duncan<sup>a</sup>

Steril	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Akuades	3	,00000 (a)	7,00000 (b)	8,13333 (c)	9,00000 (d)	28,06667 (e)
Metanol	3					
Konsentrasi 50%	3					
Konsentrasi 100%	3					
Ampisilin	3					
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**Lampiran 4.16 Data Uji Statistika DDH Distilat Minyak Atsiri Tobacco Fines Terhadap Pertumbuhan *E. Coli***

- Data Uji Two Way Anova menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics* 22.0

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: DDH Distilat Minyak Atsiri

Disilat	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
Konsentrasi 50%	Non Steril	6,00000	,000000	3
	Steril	6,00000	,000000	3
	Total	6,00000	,000000	6
Konsentrasi 100%	Non Steril	6,00000	,000000	3
	Steril	6,00000	,000000	3
	Total	6,00000	,000000	6
Dietil eter	Non Steril	28,06667	,305505	3
	Steril	28,06667	,305505	3
	Total	28,06667	,273252	6
Akuades	Non Steril	6,00000	,000000	3
	Steril	6,00000	,000000	3
	Total	6,00000	,000000	6
Ampisilin	Non Steril	7,00000	,000000	3
	Steril	7,00000	,000000	3
	Total	7,00000	,000000	6
Total	Non Steril	10,61333	9,042587	15
	Steril	10,61333	9,042587	15
	Total	10,61333	8,885313	30

- Data Uji Lanjut Duncan distilat minyak atsiri konsentrasi 50% dan 100% Maserasi Non Steril menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics* 22.0

**DDH Minyak Atsiri Non Steril**

Duncan

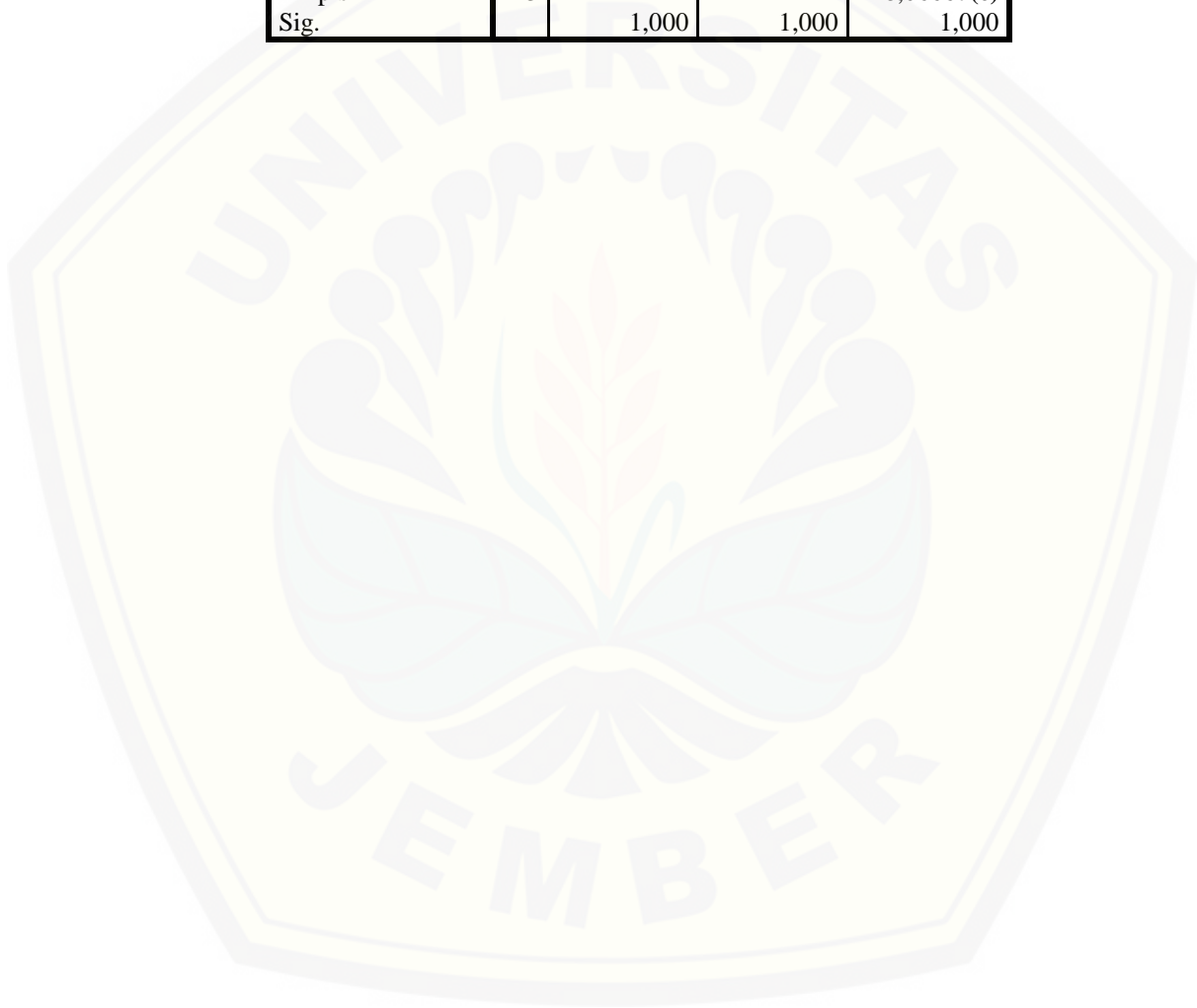
Non Steril	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Akuades	3	,00000 (a)		
Konsentrasi 50%	3		6,00000 (b)	
Konsentrasi 100%	3		6,00000 (b)	
Dietil eter	3		6,00000 (b)	
Ampisilin	3			28,06667
Sig.		1,000	1,000	1,000

- Data Uji Lanjut Duncan distilat minyak atsiri konsentrasi 50% dan 100% Maserasi Non Steril menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics* 22.0

**DDH Minyak Atsiri Steril**

Duncan

Steril	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Akuades	3	,00000 (a)		
Konsentrasi 50%	3		6,00000 (b)	
Konsentrasi 100%	3		6,00000 (b)	
Dietil eter	3		6,00000 (b)	
Ampisilin	3			28,06667(c)
Sig.		1,000	1,000	1,000





**Lampiran 4. 17 Penggolongan Senyawa Ekstrak Metanol dan Distilat  
Minyak Atsiri *Tobacco Fines***

- Penggolongan senyawa ekstrak metanol *tobacco fines*

No	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa (%)	Golongan Senyawa
1	Nikotin ( <b>1</b> )	30,24	C
2	2-t-butilsikloheksanon ( <b>6</b> )	1,49	A
3	Isopropil miristat ( <b>9</b> )	1,67	A
4	1-oktadekuna ( <b>11</b> )	1,84	B
5	1-(2-metilena-3-butenil)-1-(1-metilenepropil)siklopropana ( <b>13</b> )	2,72	B
6	2,3,6,7-tetrametil-1,4,4a,5,8,8a,9,9a,10,10a-dekahidroantrasen-9-ol ( <b>22</b> )	1,19	A
7	Asam 6,9-oktadekadienoat metil ester ( <b>24</b> )	1,08	A
8	Retinol asetat ( <b>26</b> )	3,90	A
9	17-asetoksi-19-kauranal ( <b>30</b> )	19,65	A
10	(2R,3S)-4-Metil-2-(benziloksimetil)-2,3-epoksi-1-pentanol ( <b>32</b> )	15,95	A
11	Roridin E ( <b>36</b> )	4,20	A
12	8,9-dihidroksi-1,1,3,6,9-pentametil-4-oksododekahidro-1H-4a,7a-epoksisiklopenta[a]siklopropana[11]anulena-2,7,10,11-tetraasetat ( <b>40</b> )	2,99	A
13	Nerolidol-epoksiasetat ( <b>42</b> )	9,20	A
14	2-metil-3-oksoestran-17-il asetat ( <b>43</b> )	3,87	A
		4,56	A
	Total kelimpahan senyawa (%)	65,19	B
		30,24	C

Keterangan:

A= Senyawa Teroksigenasi

B= Senyawa Hidrokarbon

C= Senyawa Ternitrogenasi

Angka bercetak tebal: Kode struktur senyawa (Lampiran 4.11)

- Penggolongan Senyawa Distilat Minyak Atsiri *tobacco fines*

No	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa (%)	Golongan Senyawa
1	Solanon (2)	0,93	A
2	4,5-dimetil-2-undekena (3)	1,26	B
3	1-klorotetradekana (4)	1,03	B
4	<i>cis</i> -3-tetradekena (5)	2,16	B
5	Dodekenil suksinat anhidrat (7)	1,12	A
6	Alpha-murolena (8)	2,49	B
7	8-metil-1-dekena (10)	2,28	B
8	1-oktadekuna (11)	13,08	B
9	6,10-dimetil-2-undekanon (12)	9,77	A
10	Asam 6,9-oktadekadienot metil ester (13)	3,48	A
11	3,7,11,15-tetrametil-2-heksadeken-1-ol (14)	2,38	A
12	Farnesil aseton (15)	1,09	A
13	2,3,5,8-tetrametil-1,5,9-dekatriena (16)	2,48	B
14	Farsenol (17)	3,95	A
15	Asam oktadekanoat metil ester (18)	1,39	A
16	Kembrena (19)	3,63	B
17	Siklododekena epoksida (20)	0,81	A
18	1-metoksi-9-oktadekena (21)	2,27	A
19	(R)-(-)- <i>m</i> -ment-1(7)-ena (23)	2,55	B
20	2,3,6,7-tetrametil-1,4,4a,5,8,8a,9,9a,10,10a-dekahidroantrasen-9-ol (24)	2,52	A
21	Heksadekana (25)	1,19	B
22	Patchulana (26)	0,97	B
23	Dehidroaromadendrena (27)	0,52	B
24	1-klorodekana (28)	1,41	B
25	Kariofilen oksida (31)	5,77	A
26	1-klorooktadekana (33)	3,04	B
27	1,4-dimetil-5-oktil-naftalena (34)	1,41	B
28	d-Ledol (35)	2,11	A
29	13(16)14-labdien-8-ol (37)	3,15	A
30	Oktadekanal (38)	1,31	A
31	4-metil-1-undekena (39)	4,74	B
32	Tetradesil oksiran (41)	0,47	A
33	2-metil-3-oksoestran-17-il asetat (43)	2,74	A
34	N-metil-N-4-4-metoksi-1-heksahidropiridil-2-butunil-acetamida (44)	0,81	C
35	Heksakosana (45)	1,51	B
36	Eikosana (46)	1,72	B
37	Dotriakontana (47)	1,89	B

No	Nama Senyawa	Kelimpahan Senyawa (%)	Golongan Senyawa
38	1-heksakosanol ( <b>48</b> )	0,44	A
39	2-metilnonadekana ( <b>49</b> )	1,67	B
40	Oktadekana ( <b>50</b> )	1,23	B
41	2-metileikosana ( <b>51</b> )	0,70	A
42	Heptakosana ( <b>52</b> )	0,60	B
Total kelimpahan senyawa (%)		46,51	A
		53,56	B
		0,81	C

Keterangan:

A= Senyawa Teroksigenasi

B= Senyawa Hidrokarbon

C= Senyawa Ternitrogenasi

Angka bercetak tebal: Kode struktur senyawa (Lampiran 4.11)