

Skripsi

**STUDI KIMIA METABOLIT SEKUNDER FRAKSI DIKLOROMETAN
(DCM) JINTAN PUTIH (*Cuminum cyminum* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Enterobacter cloacae***

**RUHUL AENY
H311 12 023**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2017**

**STUDI KIMIA FRAKSI DIKLOROMETAN (DCM) METABOLIT
SEKUNDER JINTAN PUTIH (*Cuminum cyminum* L.) SEBAGAI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Enterobacter cloacae***

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh

**RUHUL AENY
H311 12 023**



**MAKASSAR
2017**

Skripsi

**STUDI KIMIA METABOLIT SEKUNDER FRAKSI DIKLOROMETAN
(DCM) JINTAN PUTIH (*Cuminum cyminum* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Enterobacter cloacae***

Disusun dan diajukan oleh

**RUHUL AENY
H311 12 023**

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Hj. Seniwati Dali, M.Si
NIP. 19581231 198803 2003

Pembimbing Pertama



Drs. Fredryk W. Mandey, M.Sc
NIP. 19650118 199002 1 001

PRAKATA

Alhamdulillah rabbil alamin, Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala nikmat, rahmat dan karunia-Nya yang tak terbatas sehingga telah berhasil menyelesaikan penelitian dan laporan hasil penelitian dengan judul “**Studi Kimia Fraksi Diklorometan (DCM) Metabolit Sekunder Jintan Putih (*Cuminum Cyminum* L.) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae***”. Salawat dan salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. Laporan hasil penelitian ini disusun sebagai salah satu syarat untuk untuk mencapai gelar sarjana sains kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Penulis mempersembahkan laporan hasil penelitian ini kepada kedua orang tua tercinta ayahanda **H. Syamsu Alam** dan ibunda **Hj. Hernawati** yang senantiasa meberikan do’a, kasih sayang dan dukungan selama ini. Tak terlupa pula ucapan terima kasih kepada saudara-saudara terkasih **Sitti Khadijah** dan **Nurul Fajeriah** yang telah memberikan dukungan dan semangat yang tak terhingga.

Dalam penyusunan tugas akhir ini penulis juga banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini, penulis dengan hormat menyampaikan terima kasih pada:

1. **Dr. Hj. Seniwati Dali, M.Si** dan **Drs. Fredryk W. Mandey, M.Sc** selaku dosen pembimbing yang telah memberikan waktu ditengah-tengah

2. kesibukan beliau untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini.
3. Tim Penguji Ujian Sarjana Kimia **Ir. Abd. Hayat Kasim, MT, Dr. Syarifuddin Liong, M.Si, dan Dr. Maming, M.Si**. Terima kasih atas bimbingan dan saran-saran yang telah diberikan.
4. Ketua dan Sekertaris Jurusan Kimia **Dr. Indah Raya, M.Si dan Dr. Sci. Muhammad Zakir, M.Si** dan seluruh dosen Jurusan Kimia yang telah membagi ilmunya, serta staf Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin Terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.
5. Bapak **Dr. Abd. Karim, M.Si** selaku kepala Laboratorium Biokimia yang telah banyak membantu dan memberikan izin dalam pemakaian laboratorium sebagai tempat penelitian.
6. Ibu **Dr. Rugaiyah Arfah, M.Si** selaku Penasehat Akademik. Terima kasih atas nasehat dan bimbingan selama mengikuti proses perkuliahan di Jurusan Kimia.
7. Seluruh Analis laboratorium: **Pak Taufik, Ibu Lisa, Kak Juni, Kak Anti, Pak Sugeng, Kak Hannah, Ibu Tini, Kak Linda, dan Pak Iqbal**. Terima kasih atas bantuannya selama penelitian.
8. **Desri, Maretrin dan Suharlina** selaku partner penelitian, terima kasih banyak sudah mau berbagi susah-senang dan keluh kesah selama penelitian.
9. Rekan-rekan penelitian Laboratorium Biokimia: **Khalil Mubarak, Resky Dwi Cahyati, Yulianti, Darmawati, Salmawati B, Asih, Kak Ria,**

Hanung, Ilham, Sulfiani dan **Kak Niche** yang telah berbagi cerita selama di Lab.Biokimia.

10. Rekan-rekan **H312OES**, terima kasih banyak atas semua dukungan, semangat, serita dan bantun yang telah kalian berika. Semoga kelak kita semua menjadi orang sukses.

11. Sahabat calon S.Si: **Amirah Muthi'ah, Afida Tul Hasanah, Baso Agung, Desri La'bi Langi**, dan **Siti Masita**, Terima kasih atas segala kasih sayang, dukungan, dan canda tawa yang telah kalian berikan meskipun terkadang ada perselisihan.

12. Teman Teman Sugar+: **Anti, Nadia, Wirid, Elen, Indah, Andik, Opi, Nune, Afdhal, Arsil, Alfin**, dan **Andika Djoha**, Terima kasih atas segala bantuan, semangat dan Do'a yang telah diberikan selama ini.

13. Semua pihak yang tidak sempat tersebut namanya yang telah memberikan bantuan, dukungan dan Do'a kepada penulis.

Penulis sadar bahwa apa yang disajikan dalam skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para peneliti selanjutnya dalam bidang Biokimia khususnya aktivitas antibakteri.

Penulis

2017

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri fraksi diklorometan jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae*. Tahapan metode yang digunakan antara lain ekstraksi dengan metode maserasi, difraksinasi dengan metode kupchan, uji fitokimia, dan uji aktivitas antibakteri dengan metode cakram kertas. Hasil skrining fitokimia fraksi diklorometan jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) menunjukkan fraksi diklorometan teridentifikasi dalam golongan senyawa flavanoid, alkaloid, tanin, dan terpen. Hasil uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh diameter hambat untuk masing-masing konsentrasi fraksi diklorometan secara berturut-turut sebesar 16 mm (160 mg/mL), 12,075 mm (80 mg/mL), 8,425 mm (40 mg/mL), 6,525 mm (20 mg/mL), dan 6,2 mm (10 mg/mL). Sedangkan terhadap bakteri *Enterobacter cloacae* diameter hambat yang dihasilkan adalah sebesar 7,8 mm untuk fraksi diklorometan 160 mg/mL.

Kata kunci: *Cuminum cyminum* L, *Enterobacter cloacae*, Metode Kupchan, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

This study aims to analyze antibacterial activity of white cumin dichlorometan (*Cuminum cyminum* L.) fraction against *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter cloacae* bacteria. This stages of the method used include extraction by maceration method, fractionated by kupchan method, phytochemical test, and antibacterial activity test by paper disk method. The results of the phytochemical scheme of white cumin dichloromethane fraction (*Cuminum cyminum* L.) showed the identified dichloromethane fraction in the flavanoid, alkaloid, tannin, and terpen groups. The results of antibacterial test against *Staphylococcus aureus* bacteria obtained inhibitory diameter for each concentration of dichlorometan fraction respectively 16 mm (160 mg/mL), 12.075 mm (80 mg/mL), 8.425 mm (40mg/mL), 6.525 mm (20 mg/mL), and 6.2 mm (10 mg/mL). While the bacteria *Enterobacter cloacae* diameter inhibition resulted is equal to 7.8 mm for 160 mg/mL dichlorometan fraction.

Key Words: *Cuminum cyminum* L, *Enterobacter cloacae*, Kupchan method, *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Maksud Penelitian	5
1.3.2 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kajian Biologi Jintan Putih (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	6
2.1.1 Taksonomi Jintan Putih (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	6
2.1.2 Morfologi Jintan Putih (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	6
2.2 Manfaat Jintan Putih (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	7
2.3 Kandungan Kimia Jintan Putih (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	9

2.4 Bakteri	11
2.4.1 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.4.2 Bakteri <i>Enterobacter claceae</i>	14
2.5 Antibakteri	15
2.6 Metode Uji Aktivitas Antibakteri	17
2.7 Identifikasi Senyawa aktif	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Alat	21
3.2 Bahan	21
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.4 Prosedur Penelitian	22
3.4.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	22
3.4.2 Maserasi Sampel	22
3.4.3 Fraksinasi Ekstrak Metanol	22
3.4.4 Uji Fitokimia.....	23
3.4.5 Pembuatan Variasi Konsentrasi.....	24
3.4.6 Pembuatan Larutan Kontrol	25
3.4.6.1 Pembuatan larutan kontrol positif	25
3.4.6.2 Pembuatan larutan kontrol negatif.....	25
3.4.7 Penyiapan Bakteri Uji	25
3.4.7.1 Pembuatan Medium <i>Nutrient agar</i> Miring	25
3.4.7.2 Peremajaan Biakan Bakteri Uji	26
3.4.7.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	26

3.4.7.4 Pembuatan Medium Agar	26
3.4.8 Pembuatan Media Pengujian dan Uji Aktivitas Antibakteri	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Maserasi Sampel	28
4.2 Fraksinasi Ekstrak Metanol	29
4.3 Uji Fitokimia	29
4.4 Uji Antibakteri	30
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat fisik minyak esensial jintan putih	10
2. Kandungan kimia dari minyak esensial intan putih	11
3. Klasifikasi zona hambat pertumbuhan bakteri	16
4. Pengenceran bertingkat fraksi diklorometana	25
5. Hasil pengamatan uji fitokimia fraksi diklorometana	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Biji Jintan putih (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	6
2. Struktur senyawa aktif yang terkandung dalam Jintan Putih	10
3. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	13
4. Bakteri <i>Enterobacter cloacae</i>	14
5. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi diklorometan jintan putih terhadap bakteri Gram positif <i>Staphylococcus aureus</i>	32
6. Grafik hubungan antara peningkatan konsentrasi dan zona hambat terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	33
7. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi diklorometan jintan putih terhadap bakteri <i>Enterobacter Cloacae</i> dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif	34
8. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi diklorometana jintan putih terhadap bakteri <i>Enterobacter Cloacae</i> dengan gentamicin sebagai kontrol positif	35
9. Grafik hubungan antara konsentrasi dan zona hambat terhadap bakteri <i>Enterobacter cloacae</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	46
2. Skema prosedur kerja	47
3. Perhitungan	57
4. Tabel data hasil penelitian	59
5. Dokumentasi hasil penelitian	60
6. Metode Kupchan	66
7. Tabel Pelarut	67

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Arti
DCM	Dikorometan
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
LC	<i>Lethal Concentration</i>
MBC	<i>Minimum Bacterial Concentration</i>
MFC	<i>Minimum Fungicidal Concentration</i>
MIC	<i>Minimum Inhibition Concentration</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
TSA	<i>Tryptic Soya Agar</i>
TSB	<i>Tryptic Soya Brouth</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan yang sebagian besar wilayahnya dipenuhi oleh perairan dan daratan yang ditumbuhi berbagai tanaman, termasuk tanaman rempah-rempah. Sejak dulu masyarakat Indonesia telah memiliki kebiasaan menggunakan tanaman untuk berbagai kebutuhan, diantaranya kesehatan, karena sebagai obat tradisional tanaman rempah-rempah relatif aman dan tidak memberikan efek samping. Sebagian besar obat-obat tradisional yang digunakan di Indonesia berasal dari tanaman dengan kandungan berbagai jenis senyawa kimia tertentu yang bermanfaat sebagai obat atau bahan baku obat karena mempunyai efek farmakologis terhadap penyakit tertentu, termasuk penyakit akibat mikroba.

Sejak dulu penelitian bahan antimikroba dari berbagai jenis tumbuhan rempah-rempah telah banyak dilakukan. Namun seiring dengan makin bertambahnya tingkat resistensi mikroba terhadap bahan antimikroba maka upaya untuk mencari sumber antimikroba baru, terutama dari tanaman yang tumbuh di kepulauan Indonesia, semakin intensif dilakukan. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan dasar makanan dan juga sebagai obat tradisional di Indonesia adalah jintan putih, yang juga diketahui merupakan tanaman penghasil minyak atsiri yang potensial (Ridawati, dkk., 2011).

Jintan putih (*Cuminum cyminum* L.), dari suku Apiaceae, merupakan tanaman yang banyak digunakan sebagai bahan baku pembuatan makanan, wewangian,

serta sebagai obat-obatan. Biji jintan putih memiliki berbagai aktivitas biologi seperti: antibakteri, antijamur, anti-karsinogenik, dan antioksidan (Moghadam, 2015). Selanjutnya, Al-Juhaimi dan Ghafor (2013) melakukan penelitian tentang sifat antioksidan senyawa fenolik, menggunakan metode DPPH dan metode kompleks fosfomolibdenum, dari ekstrak biji jintan putih. Hasilnya menunjukkan ekstrak biji jintan putih memiliki daya antiradikal (34,25-39,25%) dan antioksidan (8,25-11,24 mg/mL) yang baik.

Minyak atsiri yang terkandung dalam biji jintan putih juga diketahui memiliki sifat antimikroba. Hasil analisis GC-MS jintan putih menunjukkan adanya 12 puncak yang terdiri dari benzildehida/kuminaldehida (35,44%), ρ -simen (34,77%), β -pimen (15,08%), γ -tripen (8,15%). Beberapa monoterpen lainnya juga terdeteksi sebagai α -thujen/ α -felandren, α -pinen, trans-limonen, cis-limonen dan senyawa golongan alkena seperti pentilsikloheksana dan sikloheksana serta eter (apiol). Hasil pengamatan minyak atsiri biji jintan putih sebagai antijamur menunjukkan bahwa seluruh khamir uji memberikan respon sensitif dengan radius zona hambat 13,4-16,5 mm. Minyak atsiri jintan putih dapat menghambat pertumbuhan khamir uji dengan nilai MIC 0,028-0,042% dan nilai MFC 0,09-0,14% (Ridawati, dkk., 2011).

Penelitian aktivitas antibakteri jintan putih juga dilakukan oleh Iocobelis, dkk., (2005) yang menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri jintan putih terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif disebabkan oleh kandungan minyak esensial jintan putih. Komponen minyak esensial jintan putih yang menghambat pertumbuhan bakteri antara lain Limonen (3,1%), geranil

asetat (1,7%), eugenol (0,7%), α -pinena (0,6%), perillaldehid (0,6%), dan sabinena (0,5%).

Sheikh, dkk., pada tahun 2010 melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak biji jintan putih terhadap 10 bakteri uji Gram positif dan Gram negatif yang dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion*. Dalam penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (*Minimum Inhibition Concentration*=MIC) dan Konsentrasi Bakterisida Minimum (MBC) dilakukan dengan metode standar. Zona hambat tertinggi ditemukan pada bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 250 mg/mL. Disisi lain, zona hambat juga ditunjukkan oleh fraksi etanol sebesar $15,00 \pm 0,82$, metanol sebesar $15,33 \pm 0,47$ dan aseton $15,67 \pm 0,82$ terhadap masing-masing bakteri *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, dan *Klebsiella pneumonia*. Pada penelitiannya diperoleh pula nilai MIC sebesar 20-50 mg/mL dan nilai MBC sebesar 40-60 mg/mL. Dari data tersebut maka dapat dilihat bahwa ekstrak biji jintan putih dapat digunakan sebagai sumber zat antibakteri baru sehingga dapat menghambat beberapa bakteri patogen pada manusia.

Bakteri yang banyak menyerang manusia maupun hewan mamalia adalah *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Enterobacter cloacae*. Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang merupakan saprofit pada kulit manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada kulit apabila bakteri tersebut mengenai luka. Untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* umumnya dilakukan pengobatan langsung pada bagian yang terinfeksi (Muthmainnah, dkk., 2014).

Enterobacter cloacae adalah bakteri Gram negatif anaerob yang berbentuk batang yang berukuran 0,3-0,6 μm x 0,8-0,2 μm . Bakteri *Enterobacter cloacae* dapat hidup disuhu optimal pada 37°C dan menggunakan flagella peritrichous untuk bergerak. *Enterobacter cloacae* dapat menyebabkan infeksi saluran pernafasan, infeksi kulit, infeksi saluran kemih, infeksi intra-abdomen, *septic arthritis*, endokarditis, dan infeksi mata (Genesig, 2016).

Berdasarkan hal tersebut tersebut maka, kami akan meneliti kandungan senyawa metabolit sekunder fraksi diklorometan dari *Cuminum cyminum* L. dan menentukan aktivitas senyawa metabolit sekunder fraksi diklorometan *Cuminum cyminum* L. sebagai antibakteri. Diharapkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dapat berperan aktif sebagai antibakteri khususnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang mewakili kelompok bakteri Gram positif dan bakteri *Enterobacter cloacae* yang mewakili Gram negatif.

1.2 RumusanMasalah

Berdasarkan dari latar belakang dapat dirumuskan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Senyawa metabolit sekunder golongan apa yang terkandung dalam *Cuminum cyminum* L. pada fraksi diklorometan ?
2. Bagaimana pengaruh kandungan senyawa metabolit sekunder *Cuminum cyminum* L. dalam fraksi diklorometan sebagai antibakteri ?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Cuminum cyminum* L. pada fraksi diklorometan dan bagaimana aktivitasnya sebagai antibakteri.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian yaitu:

1. Menentukan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi diklorometan *Cuminum cyminum* L. ?
2. Menentukan potensi senyawa metabolit sekunder *Cuminum cyminum* L. dari fraksi diklorometan sebagai antibakteri ?

1.4 Manfaat Penelitian

1. Menambah informasi mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi diklorometan *Cuminum cyminum* L. yang berperan sebagai antibakteri.
2. Melengkapi database potensi pemanfaatan *Cuminum cyminum* L. sehingga dapat digunakan sebagai pedoman pada peneliti selanjutnya.
3. Memberikan kesempatan kepada peneliti untuk belajar meneliti.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Biologi Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.)

2.1.1 Taksonomi Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.)

Menurut Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM taksonomi dari Jintan Putih adalah sebagai berikut (CCRC, 2014):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Klas	: Magnoliopsida
Subklas	: Rosidae
Suku	: Apiaceae / Umbelliferae
Marga	: <i>Cuminum</i>
Jenis	: <i>Cuminum cyminum</i> L.



Gambar 1. Biji *Cuminum cyminum* L. (Zaenab dan Abbas, 2011)

2.1.2 Morfologi Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.)

Cuminum cyminum L., atau jintan putih, merupakan jenis tanaman rerumputan yang tingginya sekitar 15-50 cm, berakar panjang berwarna putih,

daun dengan panjang 5-10 cm berbentuk lancip atau lembaran benang-benang halus yang terbagi-bagi serta berwarna hijau. Bunga dari jintan putih ini berwarna merah keputihan dengan susunan bunga terlihat seperti payung. Buahnya panjang berbentuk oval (keseluruhan badan buah tidak terbuka secara alami dan memiliki dua biji tunggal yang disebut mericarp). Buahnya mirip dengan biji adas, yang ketika dikunyah memiliki rasa pahit dan menusuk. Buahnya lebih tebal pada bagian tengah. Tertekan pada sisinya dengan panjang sekitar 5 inci yang mengandung biji tunggal (Goharl dan Saeldnia, 2011).

2.2 Manfaat Jintan Putih (*Cuminum cyminum L.*)

Jintan (*Cuminum cyminum L.*), dengan nama lokal jintan hijau atau jintan putih, merupakan tanaman asli dari Mesir yang secara luas dibudidayakan di Pakistan, Cina, Amerika Serikat dan Turki (dikenal dengan nama Zeera). Biji jintan putih diketahui memiliki kandungan senyawa aromatik (Mushtaq, dkk., 2014).

Komponen jintan putih yang sering digunakan sebagai obat adalah minyak jintan, yang diekstrak dari buah matang jintan putih atau biji jintan putih. Dalam pengobatan tradisional, jintan digunakan untuk mengatasi sakit perut, diare, dan kolik. Buah dari jintan putih digunakan juga sebagai bahan dasar masakan yang berfungsi menambah cita rasa dari suatu makanan. Selain itu minyak jintan putih juga menunjukkan aktivitas antijamur yang tinggi dan sebagai antibakteri yang memiliki efektifitas yang tinggi. Oleh karena itu jintan putih juga digunakan sebagai pengawet dalam penyimpanan bahan makanan (Kan, dkk., 2007).

Penelitian yang dilakukan oleh Chaudhary, dkk., (2014a) menunjukkan bahwa minyak atsiri jintan putih memiliki sifat aktif terhadap berbagai jenis

mikroba antara lain *Staphylococcus epidermis*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium diphterie*, *Erysipelothrix rhusiopathieae*, *Bacillus cerus*, *Clostridium tetani*, *C. Difficile*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibro cholerae*, *Aeromonas hydrophila*, *Mycobacterium tuberculosis* dan *Neisseria gonorrhoeae*. Selanjutnya juga aktif terhadap berbagai jenis jamur seperti *Asperihillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Colletotichum gloeosporiodes*. Hal ini menunjukkan potensi jintan putih sebagai antibakteri dan jamur.

Penelitian mengenai aktifitas antijamur minyak atsiri dari jintan putih terhadap strain *Aspergillus* berbeda telah dilakukan oleh Naeni dan Shokri (2011). Didalam penelitiannya dilakukan penentuan konsentrasi hambat minimum (MIC) dan konsentrasi fungisida minimum (MFC) dari minyak esensial jintan putih dan amphotericin B dengan metode *dilution broth* makro yang diujikan terhadap tujuh spesies strain *Asperhillus*. Dari uji yang dilakukan diperoleh data bahwa nilai MIC minyak atsiri jintan putih berkisar 0,3-74 mg/mL dan menunjukkan aktivitas antijamur yang sangat baik terhadap *A. nidulans* ($P < 0,05$) sedangkan pada amfoterisin B menunjukkan nilai MICs > 2 mg/mL. Data tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri jintan putih lebih efektif dibandingkan dengan amfoterisin B dan minyak esensial dari jintan putih dapat digunakan sebagai agen atijamur untuk pengobatan terhadap *Aspergillois*.

Selanjutnya pada tahun 2013, Abushama, dkk., melakukan penelitian mengenai sitotoksisitas (LC_{50}) dari minyak esensial jintan putih yang diujikan terhadap udang laut menghasilkan nilai toksisitas yang sangat tinggi yaitu 30,404 mg/mL. Selain itu dilakukan juga pengujian mengenai efek dari minyak

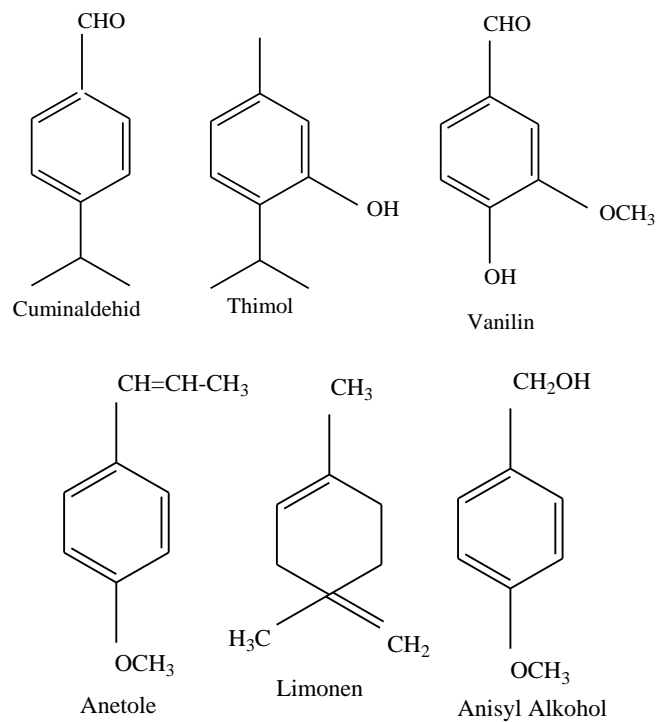
esensial jintan putih terhadap bakteri dan jamur melalui metode difusi agar dengan menggunakan Nutrien agar dan *Potato dextrose agar*. Dari pengujian tersebut diperolehnya efek antimikroba minyak atsiri *Cuminum cyminum* L. (1:100 v/v) dimana minyak atsiri tersebut signifikan terhadap *S. aureus*, *E. Coli*, *K. Pneumonia*, *A. Niger*, *C. Albicans*, dan *F. Oxysporum*.

2.3 Kandungan Kimia Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.)

Jintan putih merupakan tanaman dari suku Apiaceae yang tumbuh tahunan dan memiliki bentuk kecil dan ramping. Chaudhary., dkk (2014b) melakukan analisis fitokimia ekstrak metanol dari biji jintan putih dimana menghasilkan isolasi lemak dari sebuah asam ester yang diidentifikasi sebagai *n*-tricosanyl *n*-octadec-9-enoate dan lima kandungan terpena dan steroid yang diidentifikasi sebagai 1,4,5,8-tetrahydroxynaphthyl geranil-10'-al-1-oate, lanost-5,20(22)-dien-3 α -olyl ndocosanoate, labdan-6 α , 16,20-triol-16-(10', 11'-dihiroksiantakuion-2'-oate), stigmast-5-en-3 β -O-D-arabinopyranosyl-2'-benzoat dan lanost-5, 24-dien-3 β -ol 3 β O-D-arabinopyranosyl-2'-noctadec-9'',12''-dienoate.

Studi mengenai pemisahan dan identifikasi senyawa aktif dari biji jintan putih juga dilakukan oleh Al-Hashemi (2014). Dari hasil yang diperoleh minyak atsiri pada jintan putih yang dianalisis dengan menggunakan gas kromatografi cair mengandung senyawa aktif yaitu oktanol, limonen, timol, Anisil alkohol, cuminaldehid, anethole, vanili, dan juga asam benzoat. Asam organik yang terkandung didalamnya juga meliputi aspartat, sitrat, malat, tartrat, propionat, askorbat, oksalat, maleat dan asam fumarat. Selain itu senyawa fenolik yang diperoleh adalah asam salisilat, asam galia, asam sinamat, hidroquinon, resorcinol,

asam p- hidroksibenzoat, rutin, coumarine dan quercetin. Analisis asam organik dan senyawa fenolik tersebut dilakukan dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Disisi lain presentase minyak yang diperoleh adalah 10,97% dan komponen utama lainnya yaitu sumonaldehid 14,27%, Vanili 2,76%, dan anetole 1,93%.



Gambar 2. Struktur senyawa aktif yang terkandung dalam jintan putih (Al-Hashemi, 2014).

Tabel 1. Sifat fisik minyak esensial Jintan putih (Chaudhry, dkk., 2012)

Sifat Fisik	Nilai
Warna	Kuning kecoklatan
Bau	Tajam dan menyengat
Kemurinan	2,8%
Spesifik Gravity	0,928
Indeks Bias	1,503
Keasaman	0,56
Nilai Ester	5,61

Tabel 2. Kandungan Kimia dari minyak esensial Jintan putih (Iacobellis, dkk., 2005)

Senyawa Kimia	Konsentrasi (%)
Tricyclene	0,1
α -pinen	0,6
Sabinen	0,5
β -pinen	11,4
Myrcene	0,9
α -phellandrene	1,3
o-cymene	3,1
ρ -cymene	5,7
Limonene	3,1
β -phellandrene	2,2
γ -terpinene	12,8
cumin aldehyde	16,1
Cumin alcohol	0,4
ρ -mentha-1,3-dien-7-al	8,7
ρ -mentha-1,4-dien-7-al	27,4
Perill aldehyde	0,6
Perilla alcohol	0,3
Eugenol	0,7
Geranyl acetate	1,7
Caryophyllene	1,3

2.4 Bakteri

Bakteri adalah sel prokariotik yang memiliki ciri-ciri yang khas dimana bakteri merupakan sel uniseluler yang strukturnya tidak dibatasi oleh dinding sel di dalam sitoplasma. Sel-selnya berbentuk bola seperti batang atau spiral. Bakteri berdiameter sekitar 0,5 sampai 1,0 μm dengan panjangnya 1,5 sampai 2,5 μm dan berkembang biak dengan cara aseksual yaitu membelah diri. Beberapa bakteri dapat tumbuh pada suhu 0°C, ada yang dapat tumbuh di suhu yang ekstrim pada

suhu 90°C, tetapi lebih banyak bakteri yang dapat tumbuh antara kedua suhu ekstrim tersebut (Irianto, 2013).

Dinding sel bakteri mengandung mukopetida yang hanya dapat ditemukan pada bakteri. Dinding sel bakteri berfungsi untuk mempertahankan tekanan yang relatif tinggi pada sel yang disebabkan oleh konsentrasi zat terlarut yang tinggi serta memberikan bentuk sel dan rigiditas. Beberapa dinding sel memiliki kapsul atau lapisan lendir di bagian luar dinding sel yang biasa disebut glikokaliks. Lapisan lendir tersebut berfungsi untuk melekatkan bakteri ke sel-sel atau ke suatu permukaan. Lapisan glikokaliks tersebut juga membantu sel bakteri untuk saling melekat satu dengan yang lainnya. Bakteri motil atau bakteri yang dapat bergerak memiliki flagela tunggal atau flagela banyak tergantung spesiesnya. Flagela tersebut membantu bakteri didalam cairan bergerak ke arah makanannya atau menjauhi zat yang berbahaya. Selain flagela, bakteri juga memiliki fimbria yang dapat membantu bakteri melekat pada jaringan manusia (James, dkk., 2008).

Bakteri dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif berdasarkan perbedaan struktur dinding selnya. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan tebal tanpa adanya lapisan protein dan lapisan lipopolisakarida. Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang dilapisi oleh peptidoglikan yang tipis dan mudah pecah serta adanya lapisan protein dan lipopolisakarida pada bagian luar. Selain itu sebagian besar lapisan dinding sel bakteri Gram negatif memiliki kandungan lipida yang tinggi dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Dari perbedaan struktur dinding sel, bakteri Gram positif akan menyerap warna ungu

dan bakteri Gram negatif akan menyerap warna merah muda dari hasil uji pewarnaan Gram (Fatimawali, 2013).

2.4.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri aerob fakultatif bersifat non-motil yang menghasilkan pigmen berwarna kuning dan tidak menghasilkan spora. *Staphylococcus aureus* memiliki diameter 0,8-1,0 μl yang akan tumbuh pada suhu optimum 37°C dengan waktu pembelahan 0,47 jam (Abdullatif, 2016).

Menurut Rosenbach (1884) dalam Abdullatif (2016) klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Kerajaan : Eubacteria
Division : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Family : *Staphylococcus*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 3. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit seperti keracunan, infeksi kulit, endokraditis, pneumonia, osteomielitis, sepsis arthritis dan ensefalitis (Prasetyo, 2015). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang digunakan sebagai indikator dari pengolahan makanan yang tidak higienis. Bakteri *Staphylococcus aureus* biasanya tumbuh didalam daging. Makanan yang tercemar akibat toksin dari bakteri *Staphylococcus aureus* akan sulit dihilangkan walaupun disimpan di dalam lemari es dan tahan terhadap pemanasan yang dilakukan ketika pemasakan (Palupi, 2010). Menurut Pleczar dan Chan (1988) dalam Karlina, dkk., (2013) bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang banyak menyerang manusia maupun hewan mamalia lainnya.

2.4.2 Bakteri *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cloacae adalah bakteri Gram negatif anaerob yang berbentuk batang yang berukuran 0,3-0,6 μm x 0,8-0,2 μm . Bakteri *Enterobacter cloacae* dapat hidup disuhu optimal pada 37°C dan menggunakan flagella peritrichous untuk bergerak. *Enterobacter cloacae* dapat menyebabkan infeksi saluran pernafasan, infeksi kulit, infeksi saluran kemih, infeksi intra-abdomen, septic arthritis, endokarditis, dan infeksi mata (Genesig, 2016).



Gambar 4. Bakteri *Enterobacter cloacae* (Alamy, 2016).

Menurut Humann, dkk., (2011) klasifikasi dari bakteri *Enterobacter cloacae* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Class : Gamma Proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Enterobacter*
Species : *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cloacae dapat ditemukan pada kulit manusia serta pada jaringan buah dan sayur. Bakteri ini bukan bakteri patogen utama pada manusia namun bakteri ini berperan penting pada infeksi nosokomial (Baharutan, dkk., 2015). Bakteri *Enterobacter cloacae* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih yang menimbulkan rasa sakit dan seringnya mengalami buang air kecil. Dalam sistem pernafasan *Enterobacter cloacae* dapat menyebabkan pneumonia yang ditandai dengan sesak napas, demam, dan batuk berat. Pneumonia yang disebabkan bakteri *Enterobacter cloacae* memiliki tingkat kematian yang lebih tinggi dibandingkan dengan pneumonia yang disebabkan oleh bakteri lain (Genesig, 2016).

2.5 Antibakteri

Antibakteri atau antimikroba adalah suatu senyawa yang dapat mematikan atau menghentikan aktivitas dari bakteri. Aktivitas antibakteri dapat ditentukan melalui spektrum kerja (spektrum luas, spektrum sempit), cara kerja (bakterisidal atau bakteristatik) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), serta potensi

terhadap KHM. Suatu antibakteri dapat dikatakan mempunyai daya hambat yang baik apabila KHM terjadi pada kadar antibiotik yang rendah tetapi mempunyai daya hambat atau daya bunuh yang besar (Ngaisah, 2010).

Tabel 3. Klasifikasi zona hambat pertumbuhan bakteri (Greenwood, (1995) dalam Bhumi (2014)).

Diameter zona hammbat	Kategori efektivitas zat antibakteri
<10	Tidak ada
10-15	Lemah
16-20	Sedang
>20	Kuat

Berdasarkan sifat toksisitasnya, antibakteri dibagi menjadi dua yaitu, antibakteri yang bersifat bakterisida dan bakteriostatik. Antibakteri yang bersifat bakterisida bekerja dengan cara membunuh bakteri sedangkan antibakteri bakteriostatik bekerja dengan cara menghambat perbanyakan populasi bakteri. Bakteriostatik dalam konsentrasi yang tinggi dapat bersifat bakterisida (Ismunandar, 2008).

Menurut Maharati (2006) dalam Mardiana, dkk., (2015), mekanisme kerja antibakteri secara umum yaitu antibakteri akan mensintesis dinding sel, fungsi dinding sel, sinteisi protein dan metabolisme sel. Proses penghambatan fungsi dinding sel oleh senyawa antibakteri akan mengakibatkan tegangan permukaan sel akan berubah sehingga merusak premebilitas membran sel bakteri. Kerusakan membran sel tersebut akan mengakibatkan keluarnya berbagai komponen sel. Selain itu, senyawa antibakteri juga dapat mengambat pertumbuhan bakteri dengan penghambatan sinteis protein yaitu melalui penghambatan translasi dan transkripsi materi genetik, sedangkan senyawa antibakteri yang menghambat

metabolisme sel akan menghambat kerja enzim yang berperan dalam pertumbuhan bakteri.

Penelitian yang dilakukan oleh Sheikh (2010) minyak atsiri dari jintan putih menunjukkan zona hambat tertinggi yang ditemukan pada bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 250 mg/mL. Disisi lain, zona hambat juga ditunjukkan oleh fraksi etanol sebesar $15,00 \pm 0,82$, metanol sebesar $15,33 \pm 0,47$ dan aseton $15,67 \pm 0,82$ terhadap masing-masing bakteri *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, dan *Klebsiella pneumoniae*. Pada penelitiannya diperoleh pula nilai MIC sebesar 20-50 mg/mL dan nilai MBC sebesar 40-60 mg/mL.

Penelitian aktivitas antibakteri jintan putih juga dilakukan oleh Iocobelis, dkk., (2005) yang menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri jintan putih (terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif disebabkan oleh kandungan minyak esensial jintan putih. Komponen minyak esensial jintan putih yang menghambat pertumbuhan bakteri antara lain *Limonene* (3,1%), *geranyl asetat* (1,7%), *eugenol* (0,7%), *α -pinene*(0,6%), *perillaldehyde* (0,6%), dan *sabinene* (0,5%).

2.6 Metode Uji Aktivitas Antibakteri.

Metode uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengetahui aktivitas antimikroba suatu senyawa aktif bahan alam. Metode uji aktivitas antibakteri yang biasa digunakan adalah metode difusi yang dibagi menjadi tiga teknik yaitu metode difusi cakram, metode difusi silinder dan difusi.

a. Metode difusi Cakram.

Metode difusi cakram kertas dilakukan dengan cara cakram dicelupkan kedalam larutan sampel hingga sampel tersebar merata di permukaan

cakram. Kemudian cakram tersebut diletakkan dalam media agar padat yang sebelumnya telah dinokulasi dengan bakteri. Langkah selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri terbesar ditunjukkan oleh luas zona bening terbesar yang terbentuk dari konsentrasi tersebut. Konsentrasi terkecil dari sampel yang mampu menghambat bakteri yang diinokuasikan dengan terbentuknya zona bening merupakan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari sampel tersebut (Mulyadi, dkk., 2013).

b. Metode Silinder

Metode silinder dilakukan dengan cara meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari kaca atau besi tahan karat ke atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder diletakkan sedemikian rupa diatas media agar kemudian diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi diamati pertumbuhan bakteri untuk melihat ada tidanya daerah hambat disekitar silinder yang ditandai dengan terbentuknya zona bening (Kusmiati dan Agustini, 2006).

c. Metode Lubang.

Metode lubang dilakukan dengan cara membuat lubang pada media agar padat yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri. Lubang yang dibuat diatur sedemikian rupa dan sebanyak jumlah yang dibutuhkan. Lubang yang telah dibuat kemudian diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi diamati pertumbuhan bakteri untuk melihat ada tidanya daerah hambat disekitar silinder yang ditandai dengan terbentuknya zona bening (Kusmiati dan Agustini, 2006).

2.6 Identifikasi Senyawa Aktif

Identifikasi senyawa aktif dalam bahan alam secara kuantitatif dapat dilakukan secara sederhana untuk menentukan golongan senyawa yang diperoleh. Secara rinci beberapa pengujian sederhana dapat dilakukan sebagai berikut (Ahmad, dkk., 2013):

a. Alkaloid

1) Uji Mayer

Filtrat yang diperoleh ditambahkan pereaksi Mayer. Hasil positif adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih.

2) Uji Wagner

Filtrat yang diperoleh ditambahkan pereaksi Wagner. Hasil positif adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat sampai kuning.

3) Uji Dragendorff

Filtrat yang diperoleh ditambahkan pereaksi Wagner. Hasil positif adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan orang sampai merah

b. Terpenoid dan steroid

Uji terpenoid dan steroid dilakukan dengan menggunakan uji Lieberman-Burchard. Filtrat dipipet sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan dengan anhidrida asetat sebanyak beberapa tetes kemudian beberapa tetes H_2SO_4 pekat. Hasil positif adanya terpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin coklat ketika ditambahkan H_2SO_4 dan positif adanya steroid terlihat warna hijau-biru ketika diteteskan di plat tetes.

c. Flavonoid

1) Uji NH_4OH

Filtrat yang diperoleh direaksikan dengan larutan NH_4OH 10%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning.

2) Uji Reagen Alkalin

Filtrat yang diperoleh direaksikan dengan larutan NaOH 10%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning.

3) Uji Mg

Filtrat yang diperoleh direaksikan etanol 95% kemudian ditambahkan HCl encer dan beberapa serbuk Mg. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah

e. Uji tanin

Identifikasi tanin dilakukan dengan ekstrak yang diperoleh ditambahkan dengan FeCl_3 beberapa tetes kemudian ditambahkan H_2SO_4 2 N beberapa tetes. Hasil positif adanya senyawa tanin ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

f. Uji saponin

Ekstrak yang diperoleh ditambahkan beberapa mL air panas kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif saponin ditandai dengan adanya buih yang terbentuk beberapa lama.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain inkubator, jangka sorong, lemari pendingin, jarum ose, autoklaf, oven, blender, pemanas, pembakar spiritus, mikropipet, pipet volumetri, *bulb*, spatula, pipet tetes, plat tetes, *laminar air flow*, alat-alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Mikrobiologi, alat-alat gelas, alat destilasi, corong pisah, neraca analitik Ohaus AP-110, alat evaporasi HANVAPOR.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain jintan putih yang diperoleh dari pasar lokal, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Science Building FMIPA Unhas, *Nutrient Agar*, metanol, DCM (diklorometan), n-heksana, n-butanol, *blankdiscs* (cakram kertas), NaCl 0,9%, akuabides, antibiotik kloramfenikol, antibiotik gentamicin, DMSO, reagen Dreagendroff, reagen Wagner, H₂SO₄ encer, kloroform, FeCl₃, NaOH 10%, H₂SO₄ 2N, *tissue roll*, *palstic wrap* dan aluminium foil.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei 2016 sampai dengan bulan Februari 2017 di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Organik Jurusan Kimia

Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin Makassar, dan laboratorium Mikrobiologi Science Building FMIPA Universitas Hasanuddin Makassar.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Bahan yang digunakan adalah biji jintan putih (*Cuminum cyminum* L.). Biji jintan putih dibersihkan dan dihaluskan dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk berukuran 40 *mesh*.

3.4.2 Maserasi Sampel

Serbuk biji jintan putih yang telah dihaluskan pada prosedur kemudian ditimbang sebanyak 552,8 gram dan dimaserasi dengan 1,0 liter metanol selama 3 hari dan dilakukan pengadukan sesekali. Setelah itu dipisahkan antara residu dan maserat dengan menggunakan metode dekantasi. Residu yang diperoleh dimaserasi kembali. Langkah tersebut diulangi sebanyak 3 kali lalu maserat yang diperoleh digabungkan dan diperoleh ekstrak kasar metanol. Ekstrak kasar metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu rendah 40-50°C.

3.4.3 Fraksinasi Ekstrak Metanol

Ekstrak kasar metanol di fraksinasi dengan menggunakan metode Kupchan. Ekstrak kasar metanol disuspensikan dalam air dan diekstraksi dengan diklorometana sebanyak 3 kali, maka akan diperoleh fraksi air dan fraksi diklorometana. Fraksi diklorometana yang diperoleh kemudian dikeringkan dan dilarutkan kembali dengan metanol/air (9:1). Selanjutnya diekstraksi dengan n-heksana sebanyak 3 kali lalu dipisahkan antar fraksi n-heksana dan fraksi

metanol/air (9:1). Fraksi metanol/air (9:1) kemudian dievaporasi hingga kering dan ditambahkan metanol/air (5:5). Fraksi metanol air yang diperoleh selanjutnya diekstraksi kembali dengan menggunakan diklorometana sebanyak 3 kali lalu dipisahkan fraksi metanol/air (5:5) dengan fraksi diklorometan. Fraksi diklorometan yang diperoleh didiamkan hingga kering (Kupchan, dkk., 1974).

3.4.4 Uji Fitokimia

Fraksi diklorometana yang diperoleh kemudian dilakukan uji pendahuluan melalui uji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi diklorometana (Ahmad, dkk., 2014).

a. Alkaloid

- Uji Wagner

Filtrat yang diperoleh ditambahkan pereaksi Wagner. Hasil positif adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning.

b. Terpenoid dan steroid

Uji terpenoid dan steroid dilakukan dengan menggunakan uji Liebermann-Burchard. Fraksi diklorometana dipipet sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan dengan anhidrida asetat sebanyak 0,5 mL kemudian beberapa tetes H_2SO_4 pekat. Hasil positif adanya terpenoid dengan terbentuknya cincin coklat ketika ditambahkan H_2SO_4 dan hasil positif adanya steroid terlihat warna hijau-biru ketika diteteskan di plat tetes.

c. Flavonoid

4) Uji NH_4OH

Ekstrak yang diperoleh direaksikan dengan larutan NH_4OH 10%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning.

5) Uji Reagen Alkalin

Ekstrak yang diperoleh direaksikan dengan larutan NaOH 10%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning.

e. Uji Tanin

Identifikasi tanin dilakukan dengan fraksi diklorometana ditambahkan dengan FeCl₃ beberapa tetes kemudian ditambahkan H₂SO₄ 2 N beberapa tetes. Hasil positif adanya senyawa tanin ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

f. Uji saponin

Fraksi diklorometana ditambahkan beberapa mL air panas kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif saponin ditandai dengan adanya buih yang terbentuk beberapa lama.

3.4.5 Pembuatan Variasi Konsentrasi Fraksi Diklorometana

Variasi konsentrasi 160 mg/mL; 80 mg/mL; 40 mg/mL; 20 mg/mL dan 10 mg/mL dibuat dengan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Fraksi diklorometan 160 mg/mL dibuat dengan cara mengencerkan 337,7 mg fraksi diklorometan yang diperoleh dengan 2,1106 mL DMSO. Fraksi diklorometan 80 mg/mL dibuat dengan cara fraksi diklorometan 160 mg/mL dipipet sebanyak 200 µL kedalam vial kecil lalu ditambahkan DMSO sebanyak 200 µL kemudian dihomogenkan. Pembuatan fraksi 40 mg/mL dibuat dari fraksi diklorometan 80 mg/mL, fraksi 20 mg/mL dibuat dari fraksi diklorometan 40 mg/mL, dan fraksi 10 mg/mL dibuat dari fraksi diklorometan 20 mg/mL dengan perlakuan yang sama dengan fraksi diklorometan 80 mg/mL.

Tabel 4. Pengenceran bertingkat Fraksi diklorometana Jintan Putih

Konsentrasi awal larutan	Volume yang dipipet	Volume DMSO yang ditambahkan	Konsentrasi akhir larutan
160 mg/mL	200 μ L	200 μ L	80 mg/mL
80 mg/mL	200 μ L	200 μ L	40 mg/mL
40 mg/mL	200 μ L	200 μ L	20 mg/mL
20 mg/mL	200 μ L	200 μ L	10 mg/mL

3.4.6 Pembuatan Larutan Kontrol

3.4.6.1 Pembuatan Larutan Kontrol Positif

a. Pembuatan Larutan Kontrol Positif Kloramfenikol

Antibiotik kloramfenikol ditimbang sebanyak 250 mg kemudian diencerkan dengan 25 mL akuabides steril hingga didapatkan konsentrasi 10 mg/mL (Mardiana, dkk., 2015).

b. Larutan Kontrol Positif Gentamicin

Larutan kontrol positif yang digunakan langsung dari larutan antibiotik gentamicin yang tersedia di apotik dengan konsentrasi 3 mg/mL.

3.4.6.2 Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO steril. DMSO dipipet sebanyak 10 mL dan dimasukkan kedalam gelas kimia 100 mL. Gelas kimia berisi DMSO kemudian ditutup dengan menggunakan *aluminium foil* lalu dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit.

3.4.7 Penyiapan Bakteri Uji

3.4.7.1 Pembuatan Medium *Nutrient Agar* Miring

Nutrient agar ditimbang sebanyak 5,75 gram dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, kemudian ditambahkan akuabides sebanyak 250 mL. Setelah itu

dihomogenkan menggunakan magnetik *stirer* di atas penangas air sambil dipanaskan hingga larut sempurna. Kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 4 mL lalu disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C, selama 15 menit setelah steril, tabung diposisikan dalam keadaan miring 45° hingga memadat. Medium *Nutrient agar* miring selanjutnya digunakan sebagai medium peremajaan bakteri uji (Kusmiati dan Agustini, 2016).

3.4.7.2 Peremajaan Biakan Bakteri Uji

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae* yang berasal dari biakan murninya, masing-masing diambil sebanyak 1-2 ose lalu diinokulasi ke dalam medium *nutrient agar* miring secara aseptis, lalu diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Kusmiati dan Agustini, 2016).

3.4.7.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae* yang telah diremajakan, masing-masing diambil 2-3 ose lalu disuspensikan ke dalam vial kecil yang berisi NaCl 0,9%, kemudian dihomogenkan

3.4.7.4 Pembuatan Medium Agar

Nutrient agar ditimbang sebanyak 5,75 gram dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 250 mL. Setelah itu dihomogenkan menggunakan *stirer* di atas penangas air sampai mendidih lalu disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C, selama 15 menit. Selanjutnya dituang sebanyak 15 mL ke dalam setiap cawan petri kemudian didinginkan pada suhu kamar hingga memadat.

3.4.8 Pembuatan Media Pengujian dan Uji Aktivitas Antibakteri

Permukaan medium agar digoreskan suspensi bakteri uji secara aseptis. Setelah itu, masing-masing media pengujian kemudian diletakkan *blankdiscs* (cakram kertas) yang sebelumnya telah ditetaskan dengan berbagai variasi konsentrasi fraksi diklorometana jintan putih, larutan kontrol negatif, dan larutan kontrol positif masing-masing sebanyak 20 μL kedalam *blankdiscs* berbeda yang telah didiamkan beberapa saat hingga betul-betul terserap kedalam cakram kertas. *Blankdiscs* yang telah ditetesi tersebut diletakkan diatas media pengujian yang telah diatur jaraknya sedemikian rupa agar daerah pengamatan tidak saling bertumpuh (Mulyadi, dkk., 2013).

Setelah itu cawan petri ditutup rapat menggunakan *plastic wrap* kemudian dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Diamati zona bening yang terbentuk di sekitar cakram kertas, kemudian zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Prosedur ini juga dilakukan terhadap bakteri *Enterobacter cloacae*. Terbentuknya zona bening di sekitar cakram kertas menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae* (Mulyadi, dkk. 2013).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini diuraikan hasil-hasil yang diperoleh dalam penelitian ini yang mencakup hasil proses kimiawi dan mikrobiologi. Proses kimiawi akan meliputi maserasi, fraksinasi, dan uji fitokimia selanjutnya metode mikrobiologi mencakup uji aktifitas antibakteri fraksi diklorometan *Cuminum cyminum* L. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae*.

4.1 Maserasi Sampel

Pembuatan ekstrak dilakukan menggunakan cara maserasi terhadap sampel dengan pelarut metanol selama beberapa hari. Maserasi dilakukan untuk menarik semua senyawa yang terkandung dalam sampel. Maserasi digunakan karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta mudah diperoleh.

Proses maserasi dilakukan dengan merendam sampel serbuk jintan putih yang telah dihaluskan dengan pelarut metanol. Perendaman ini akan memecah membran sel sampel, akibat adanya perbedaan tekanan antara bagian dalam dan bagian luar, sehingga metabolit sekunder yang terkandung di dalam sitoplasma sampel akan larut dalam pelarut metanol yang digunakan (Tanaya, dkk., 2015).

Dalam penelitian ini digunakan 552,8 gram sampel yang telah dihaluskan dan direndam menggunakan pelarut metanol p.a. Menurut Casani, dkk., 2013, pelarut metanol mempunyai sifat yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik baik yang bersifat polar, semi polar maupun non polar. Sampel dimaserasi sebanyak 3 (tiga) kali sampai larutan pelarut metanol berwarna kuning bening. Hal tersebut dilakukan agar semua zat-zat aktif yang terdapat dalam sampel

benar-benar tertarik ke dalam pelarut. Hasil maserasi yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan evaporator, sehingga yang diperoleh ekstrak kental sampel sebanyak 81,6903 gram berwarna hitam pekat.

4.2 Fraksinasi Ekstrak Metanol

Ekstrak kental sampel difraksinasi untuk memisahkan komponen kimia yang terdapat dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya (Tanaya, dkk., 2015). Metode fraksinasi yang digunakan adalah metode Kupchan (Kupchan, dkk., 1978). Metode Kupchan melakukan fraksinasi sampel berdasarkan tingkat kepolaran senyawa dalam sampel, dimulai dari yang paling polar yaitu air sampai dengan yang paling tidak polar yaitu n-heksana.

Sebanyak 23,3205 gram ekstrak kasar sampel di fraksinasi berkelanjutan dengan pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda masing-masing: air, n-butanol, metanol, diklorometana, dan n-heksan. Dari hasil fraksinasi diperoleh fraksi diklorometana dengan warna coklat pekat seberat 3,8172 gram.

4.3 Uji Fitokimia

Fraksi diklorometan yang diperoleh dari hasil fraksinasi selanjutnya diuji fitokimia yang dimaksudkan untuk mengetahui golongan/kelas senyawa yang terkandung dalam fraksi diklorometan jintan putih. Keberadaan golongan/kelas senyawa organik yang ada dalam fraksi diklorometan sampel jintan putih ditunjukkan oleh perubahan warna yang dihasilkan pereaksi uji fitokimia. Hasil lengkap uji fitokimia fraksi diklorometan ekstrak jintan putih dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengamatan uji fitokimia fraksi diklorometana ekstrak jintan putih (*Cuminum cyminum* L.)

No.	Uji Fitokimia	Warna sebelum dengan pereaksi	Perubahanwarna dengan pereaksi	Ket.
1	Uji Flavanoid			
	- NH ₄ OH	- Coklat pekat	- Kuning bening	+
	-NaOH	- Coklat pekat	- Kuning	+
2	Uji Alkaloid			
	- Pereaksi Wegner	- Coklat pekat	- Merah - Endapan coklat	+
3	Uji Tanin	- Coklat pekat	- Hijau kehitaman	+
4	Uji Saponin	- Coklat pekat	- Putih keruh 2 fasa	-
5	Uji Steroid			
	- Liberman-Burchard	- Coklat pekat	- Hitam pekat-Kuning bening	-
6	Uji Terpen			
	- Liberman-Burchard	- Coklat pekat	- Hitam pekat-Kuning bening	+

Keterangan : + = Uji positif (ada) - = Uji negatif (Tidak ada)

Hasil uji fitokimia pada Tabel 5 menunjukkan bahwa fraksi diklorometan *Cuminum cyminum* L. positif mengandung senyawa golongan flavanoid, alkaloid, tanin, dan terpen dengan terjadinya perubahan warna atau terbentuknya endapan. Sedangkan uji senyawa golongan saponin menunjukkan hasil negatif. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Al-Snafi, (2012) yang menunjukkan bahwa jintan putih mengandung senyawa aktif alkaloid, kumarin, antarquinon, flavanoid, glikosida, protein, resin, saponin, dan tanin.

4.4 Uji Antibakteri

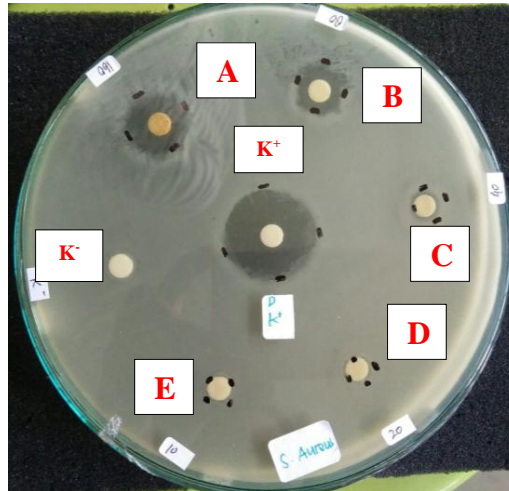
Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengetahui aktivitas antimikroba suatu senyawa bahan alam. Salah satu metode uji aktivitas antibakteri yang umum digunakan adalah metode difusi cakram kertas. Metode ini dilakukan dengan mencelupkan cakram kedalam larutan sampel hingga sampel tersebut merata di

permukaan cakram. Kemudian cakram tersebut diletakkan dalam media agar padat yang sebelumnya telah dinokulasi dengan bakteri lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Aktivitas antibakteri terbesar ditunjukkan oleh luas zona bening terbesar yang terbentuk pada konsentrasi tersebut. Konsentrasi terkecil dari sampel yang mampu menghambat bakteri yang diinokulasikan dengan terbentuknya zona bening merupakan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari sampel (Mulyadi, dkk., 2013). Pada penelitian ini fraksi diklorometan jintan putih yang diperoleh diujikan dengan metode cakram kertas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae* yang dilakukan secara aseptis. Pengujian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* digunakan cakram kertas yang berisi kloramfenikol untuk kontrol positif dan cakram kertas yang berisi DMSO steril sebagai kontrol negatif.

Kloramfenikol sebagai kontrol positif berfungsi sebagai pembanding karena merupakan jenis antibiotik yang memiliki spektrum luas (dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif). Sedangkan kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan dapat menghambat atau membunuh bakteri. Selain itu penggunaan DMSO steril ini juga berfungsi sebagai pelarut untuk membuat berbagai variasi konsentrasi pada uji aktivitas antibakteri. Penggunaan DMSO steril sebagai pelarut agar daya hambat pertumbuhan bakteri yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan sedangkan apabila digunakan diklorometan sebagai pelarut dikhawatirkan dapat membunuh bakteri karena kemungkinan bersifat toksik terhadap bakteri (Noviyanti, dkk., 2014). Hasil pengujian aktivitas antibakteri

fraksi diklorometana jintan putih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 5 dan Tabel 6.



Gambar 5. Hasil pengamatan uji antibakteri fraksi diklorometan jintan putih terhadap bakteri Gram negatif *Staphylococcus aureus*.

Keterangan :

A = Konst. Fraksi DCM 160 mg/mL

E = Konst. Fraksi DCM 10 mg/mL

B = Konst. Fraksi DCM 80 mg/mL

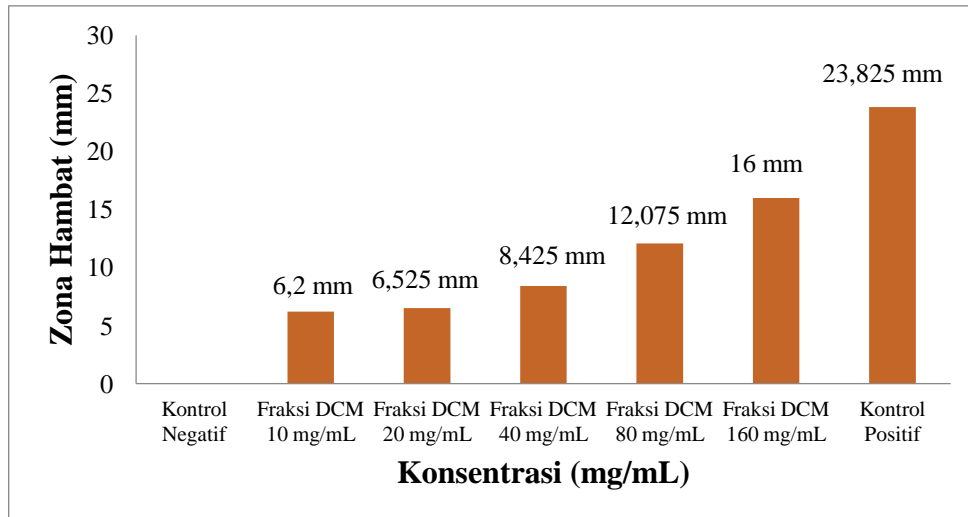
K⁺ = Kontrol Positif (kloramfenikol)

C = Konst. Fraksi DCM 40 mg/mL

K⁻ = Kontrol Negatif (DMSO steril)

D = Konst. Fraksi DCM 20 mg/mL

Dari hasil uji yang ditunjukkan pada Gambar 5 DMSO steril sebagai kontrol negatif tidak memiliki sifat antibakteri karena tidak menghasilkan zona bening di sekitar cakram kertas, sehingga zona bening yang dihasilkan disekitar cakram kertas dari berbagai variasi konsentrasi ekstrak uji tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Zona hambat yang terbentuk memiliki ukuran yang berbeda-beda disetiap konsentrasinya. Berdasarkan pengujian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, didapatkan nilai diameter daerah hambat fraksi diklorometan jintan putih pada konsentrasi 10 mg/mL; 20 mg/mL; 40 mg/mL; 80 mg/mL; dan 160 mg/mL memiliki diameter daerah hambat lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol positif kloramfenikol.



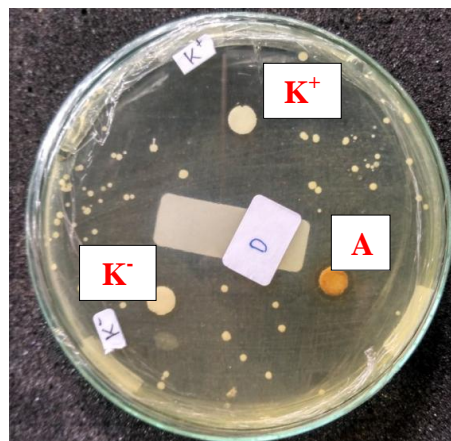
Gambar 6. Grafik hubungan antara peningkatan konsentrasi dan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Dapat dilihat pada Gambar 6, fraksi diklorometan dengan konsentrasi 160 mg/mL menghasilkan zona hambat paling besar yaitu 16 mm yang nilai efektivitas zona hambatnya masuk kedalam kategori sedang. Fraksi dengan konsentrasi 80 mg/mL membentuk zona hambat sebesar 12,075 mm yang nilai efektivitas antibakterinya masuk kedalam kategori lemah dan fraksi dengan konsentrasi 40 mg/mL, 20 mg/mL serta 10 mg/mL berturut-turut membentuk zona hambat sebesar 8,425 mm, 6,525 mm dan 6,2 mm yang nilai efektivitas antibakterinya masuk kedalam kategori tidak ada. Kontrol negatif (DMSO steril) pada bakteri *Staphylococcus aureus* tidak menghasilkan zona hambat yang dikarenakan DMSO tidak mempunyai aktivitas antibakteri.

Sehingga dari data yang diperoleh pada uji antibakteri fraksi diklorometan jintan putih dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi suatu sampel maka akan semakin besar pula diameter zona hambat bakteri yang dihasilkan. Suatu zat yang dikatakan aktif atau tidak dilihat dari daerah bening yang dihasilkan, semakin banyak zat aktif yang diserap maka semakin besar zona yang

dihasilkan. Adanya aktivitas antibakteri kemungkinan karena adanya aktivitas kerja dari senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi diklorometan jintan putih (*Cuminum cyminum* L).

Pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Enterobacter cloacae* awalnya digunakan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif terhadap bakteri *Enterobacter cloacae* dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 7. Pada Gambar 6, menunjukkan bahwa disekitar cakram kertas pada kontrol positif tidak terbentuk zona bening sehingga tidak dapat dijadikan sebagai pembanding terhadap aktivitas antibakteri fraksi diklorometana jintan putih.



Gambar 7. Hasil pengamatan uji antibakteri fraksi diklorometan jintan putih terhadap bakteri Gram negatif *Enterobacter cloacae*.

Keterangan :

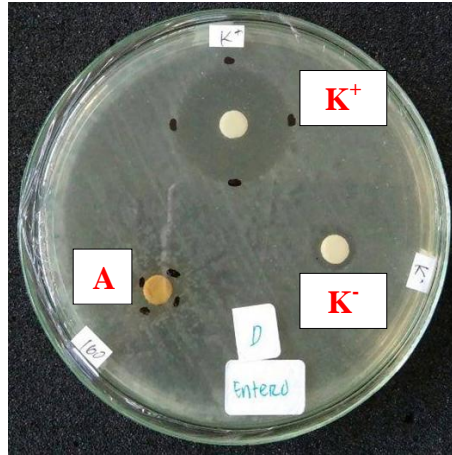
A = Konst. Fraksi DCM 160 mg/mL

K⁺ = Kontrol Positif (kloramfenikol)

K⁻ = Kontrol Negatif (DMSO steril)

Dari uji dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif menunjukkan bahwa antibiotik tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Enterobacter cloacae* karena kemungkinan antibiotik kloramfenikol resisten terhadap bakteri tersebut. Kloramfenikol tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri, maka digunakan gentamicin sebagai kontrol positif terhadap bakteri *Enterobacter cloacae* dan hasil

dapat dilihat pada Gambar 8 dan Gambar 9. Gentamicin merupakan antibiotik aminoglikosida yang menghambat sintesis protein bakteri.



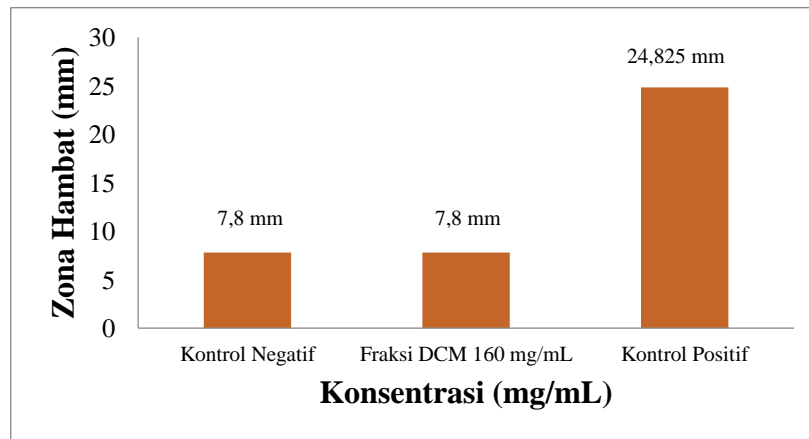
Gambar 8. Hasil pengamatan uji antibakteri fraksi diklorometan jintan putih terhadap bakteri Gram negatif *Enterobacter cloacae*.

Keterangan :

A = Konst. Fraksi DCM 160 mg/mL

K⁺ = Kontrol Positif (gentamicin)

K⁻ = Kontrol Negatif (DMSO steril)



Gambar 9. Grafik hubungan antara konsentrasi dan zona hambat terhadap bakteri *Enterobacter cloacae*

Data yang diperoleh dari pengujian aktifitas antibakteri fraksi diklorometana jintan putih terhadap bakteri Gram negatif *Enterobacter cloacae*, fraksi yang hanya mampu membentuk zona hambat adalah fraksi dengan konsentrasi 160 mg/mL dengan zona bening yang terbentuk yaitu sebesar 7,8 mm yang

dikategorikan tidak mampu dijadikan sebagai antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona hambat kontrol positif gentamicin lebih besar dibandingkan dengan fraksi diklorometana jintan putih. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya zona bening yang terbentuk pada bakteri *Enterobacter cloacae*. Dari data tersebut dapat dikatakan bahwa fraksi diklorometana jintan putih belum mampu menghambat pertumbuhan spesies bakteri tersebut karena itu perlu dilakukan studi literatur yang membahas jauh tentang kandungan aktif fraksi diklorometan jintan putih dengan bahan alam lainnya yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Enterobacter cloacae*.

Dari hasil penelitian, fraksi diklorometana lebih besar daya hambatnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan bakteri *Enterobacter cloacae*, hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang lebih besar pada media yang ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan zona hambat yang ditumbuhi bakteri *Enterobacter cloacae*. Diameter zona hambat yang berupa zona bening di sekitar cakram menunjukkan bahwa fraksi diklorometan jintan putih pada konsentrasi berbeda-beda mempunyai tingkat efektivitas yang berbeda-beda terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Gambar 5 dan Gambar 8).

Perbedaan zona hambat yang terbentuk dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan bakteri *Enterobacter cloacae*. Menurut Karlina, dkk., (2013), perbedaan sensitivitas ini menimbulkan zona hambat yang dihasilkan berbeda, hal ini karena adanya perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri. Bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri dibandingkan bakteri

Gram negatif karena adanya perbedaan struktur dinding sel. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks, berlapis tiga yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan. Sedangkan dinding sel bakteri Gram positif relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa bakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri (Amalia, dkk., 2014).

Selain faktor struktur dinding sel, secara umum faktor lain yang mempengaruhi daya hambat suatu ekstrak bahan alam terhadap pertumbuhan bakteri, yakni kandungan aktif senyawa antibakteri pada sampel, dan terjadinya resistensi terhadap antibiotik. Semakin banyak kandungan aktif bahan alam semakin besar juga potensi dalam menghambat bahkan membunuh bakteri karena mampu merusak dinding sel dan masuk ke dalam sel melakukan denaturasi protein sehingga bakteri tersebut mati (Abdullatif, 2016).

Berdasarkan hasil uji fitokimia, fraksi diklorometan jintan putih mengandung senyawa aktif flavanoid, tanin, terpenoid dan alkaloid yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Chee, (2009) dalam Abdullatif (2016), flavanoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol yang mempunyai sifat meningkatkan permeabilitas sel. Dengan meningkatnya permeabilitas sel, maka pertumbuhan mikroorganisme terhambat karena kemampuannya membentuk senyawa kompleks dengan protein. Dengan rusaknya protein maka aktivitas metabolisme mikroba menjadi terganggu sehingga mengakibatkan kematian mikroba.

Senyawa tanin juga memiliki aktivitas antibakteri karena dapat mengikat protein sehingga menghambat pertumbuhan dinding sel bakteri. Dinding sel

bakteri yang telah lisis akibat adanya senyawa flavanoid mengakibatkan senyawa tanin dengan mudah masuk ke dalam sel bakteri dan mengkoagulasi protoplasma sel bakteri (Masduki, 1996).

Senyawa terpenoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin mengakibatkan kurangnya permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengganggu pertumbuhan bakteri (Amalia, dkk., 2014). Selain dari flavanoid, tanin dan juga terpen, aktivitas antibakteri fraksi diklorometan jintan putih juga diakibatkan senyawa golongan alkaloid. Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengakibatkan kematian sel (Amalia, dkk., 2014).

Menurut Ridawati, dkk., (2011) biji jintan putih mengandung minyak atsiri yang telah dilaporkan memiliki sifat antimikroba. Hasil analisis GC-MS jintan putih menunjukkan adanya 12 puncak yang terdiri dari benzilaldehid/kuminaldehid (35,44%), ρ -simen (34,77%), β -pimen (15,08%), γ -tripen (8,15%). Selain itu, penelitian yang dilakukan Icobelis, dkk., (2005) juga menunjukkan bahwa kandungan minyak esensial jintan putih menunjukkan aktivitas antibakteri jintan putih terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif dimana komponen minyak esensial yang menghambat pertumbuhan bakteri antara lain Limonen (3,1%), geraniil asetat (1,7%), eugenol (0,7%), α -pinen (0,6%), perillaldehid (0,6%), dan sabinen (0,5%).

Menurut Lee, (2000) dalam Abdullatif (2016), senyawa α -pinen dan β -pimen merupakan senyawa terpenoid yang dikenal mempunyai efek antimikroba dan memiliki kemampuan untuk merusak integritas seluler dan respon menghambat serta dapat merusak proses transport. Menurut Dewi (2010), senyawa flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar sehingga mudah menembus lapisan peptidoglikan pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang juga memiliki sifat polar sehingga bakteri *Staphylococcus aureus* lebih sensitif biarpun diujikan dengan sampel yang memiliki konsentrasi kecil.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi diklorometana jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) adalah flavanoid, alkaloid, tanin, dan terpen. Fraksi diklorometan jintan putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 16 mm (160 mg/mL) yang dikategorikan sedang dan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterobacter cloacae* karena hanya menghasilkan zona hambat sebesar 7,8 mm (160 mg/mL) dengan masing masing waktu inkubasi 1 x 24 jam.

5.2 Saran

1. Dilakukannya pemurnian terhadap fraksi diklorometana jintan putih sehingga dapat dikarakterisasi lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi diklorometan jintan putih yang berperan aktif sebagai antibakteri.
2. Dilakukannya studi lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri fraksi diklorometana jintan putih terhadap bakteri Gram negatif *Enterobacter cloacae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullatif., 2016, *Daya Hambat Ekstrak Rimpang Kunyit (Curcuma domestica Val.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Staphyococcus epidermidis Secara In Vitro*, (Skripsi), Program Studi D4 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah, Semarang.
- Abushama, M.F., Yasmin, H., Abdalgadir, H., dan Khalid, H., 2013. Chemical composition, Antimicrobial and Brine Shimp Lethality od The Essential Oil of *Cuminum cyminum* L., *International Journal Of Pharmaceutical and Chemical*, **2**(4):1666-1672.
- Ahmad, T., Singh, S.B., dan Pandey, S., 2013, Phitochemical Screening and Physicochemical Parameters oF Crude Drugs; A Brief Review, *Internatioal Journal of Pharma Research & Review*, **2**(12):53-60.
- Alamy, 2016, *Stock Photo: Enterobacter cloacae*, (Online), (<http://www.alamy.com/stock-photo-enterobacter-cloacae-49161901.html> , diakses 03 Mei 2016).
- Al-Hashemi, F.H.Y., 2014, Chromatographic Separation and Indentification of Some Volatile Oils, Organic Acids and Phenols From The Seeds of *Cuminum cyminum* Growing in Iraq, *IJRRAS*, **19**(1):80-90.
- Al Juhami, F.Y., dan Ghafoor, K., 2013, Extraction optimization and in Vitro antioxidant properties of phenolic compounds from cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed, *International food research journal*, **20**(4): 1669-1875.
- Al-Snafi, A.E., 2013, The Pharmacological activities of *Cuminum cyminum*- A review, *IOSR Journal of Pharmacy*, **6**(6): 46-65.
- Amalia, S., Wahdianingsih, S. Dan Untari, E.K., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Traditional Medicine Journal*, ISSN: 1410-5918, **19**(2), 89-94.
- Atun, S., 2014, Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam, *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*, **8**(2): 53-61.
- Baharutan, A., Rares, F.E.S., dan Soeliongan, S., 2015, Pola Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Ruang Perawatan Intensif Anak di BLU RSUP. Dr. R. D. Kandou Manado, *Jurnal e-Biomedik*, **3**(1): 412-419.
- Bhumi, L.S., 2014, *Uji Efektivitas Ekstrak Jintan Hitam (Nigella sativa) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas aeruginosa*, Skripsi tidak

diterbitkan, Program studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

- Chasani, M., Firiaji, R.B, dan Purwati, 2013, Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Ketapang (*Terminalia catappa* Linn.) dan Uji Toksisitasnya Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), *Molekul*, **8**(1): 89-100.
- CCRC, 2014, *Cancer Chemoprevention Research Center Jinten Putih (Cuminum cyminum L.)*, UGM Farmasi, Yogyakarta, (Online), (http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?Page_id=98# diakses 19 Maret 2016).
- Chaudhry A.H., Tanveer, A., Shar, A., Akhtar, M.S., Shahid, M.K., Ashfaq, K.M., Malik, T.A., dan Siddiqui, R.U., 2012, Physico-Chemical Investigation and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Cuminum cyminum* L., *World Applied Sciences Journal*, **19**(3)330-333.
- Chaudhary, N., Husain, S.S., dan Ali, M., 2014a, Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Volatile Oil of The Seeds of *Cuminum cyminum* L., *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.*, **3**(7):1428-1441.
- Chaudhary, N., Husain, S.S., dan Ali, M., 2014b, New Phenolic, triterpenic and steroidal constituents from The Fruits of *Cuminum cyminum* L., *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **3**(1):149-154.
- Dewi, F.K., 2010, *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, Lin) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Fatimawali, 2013, Daya Reduksi Merkuri Isolat Bakteri Yang Diisolasi dari Urine Pasien di Puskesmas Bahu Manado, *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, **2**(3): 109-115.
- Genesis, 2016, *Quantification of Enterobacter cloacae genomes*, PrimerdesignTMLtd, United Kingdom.
- Gohari, A.R., dan Saeidnia, S., 2011, A Review on Phytochemistry of *Cuminum cyminum* seeds and its Standards From Field to Market, *Pharmacognosy Journal*, **3**(25):1-5.
- Humann, J.L., Wildung, M., Cheng, C., Lee, T., Stewart, J.E., Drew, J.C., Triplett, E.W., Main, D., dan Schroeder, B.K., 2011, Complete Genome of The Onion Pathogen *Enterobacter cloacae* EcWSU1, *Standards in Genomic Sciences*, **5**: 279-286.

- Iacobellis, N.S., Cantore, O.L., Copasso, F., dan Sentore, F., 2005, Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential Oil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**(1):57-61.
- Irianto, K., 2013, *Mikrobiologi Medis*, Alfabeta, Bandung.
- Ismunandar, W., 2008, *Potensi Antibakteri Kulit Kayu dan Daun Tanaman Akway (Drymis sp) dari Papua*, Skripsi tidak diterbitkan, Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Petanian Bogor, Bogor.
- James, J., Baker, C., dan Swain, H., 2002, *Prinsip-prinsip Sains untuk Keperawatan*, Diterjemahkan oleh dr. Indah Retno Wardhani tahun 2008, Erlangga, Jakarta.
- Kan, Y., Kartal, M., Ozek, Temel, Aslan, S., dan Baser, K.H.C., 2007, Composition of Essential Oil of *Cuminum cyminum* L. According to Harvesting Times, *Turkish J. Pharm. Sci.i*, **4**(1):25-29.
- Karlina, C.Y., Ibrahim, M., dan Trimulyono, G., 2013, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *LenteraBio*, **2**(1): 87-93.
- Kupchan, S.M., Stevens, K.S., Rohlfing, E.A., Sickles, B.S., Sneden, A.T., Miller, R.W., and Bryan, R.F., 1978, New Cytotoxic Neolignans from *Aniba megaphylla* Mez, *J.Org.Chem*, **43**(4): 586-590.
- Kusmiati dan Agustini, N.W.S., 2006, Uji aktivitas Antibakteri dari Mikroalga *Porhyridium cruentum*, *Biodiversitas*, **8**(1): 48-53.
- Mardiana, A.D., Ibrahim, M., dan Lisdiana, L., 2015, Potensi Filtrat Daun *Sansevieria trifasciata* Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bkateri *Staphylococcus aureus* dan *Esvherichia coli*, *LenteraBio*, **4**(1): 6-12.
- Masduki, I., 1996, Efek antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Aresa catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli* in vitro, *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*, **109**:21-24.
- Moghadam, A.R.L., 2015, Essential Oil of The Seeds of *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae)., *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences.*, **4**(3):161-163.
- Mulyadi, M., Wuryanti, dan Ria., 2013, Konsetrasi Hambat Minimum (KHM) kadar sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram, *Chem Info*, **1**(1): 35-42.
- Mushtaq, A., Ahmad, M., Jabeen, Q., Saqib, A., Wajid, M., dan Akram, M.A., 2014, Hepatoprotective Investigations Of *Cuminum syminum* Dried Seed

In Nimesulide Intoxicated Albino Rats, By Phytochemical And Biochemical Methods, *International Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, ISSN: 0975-1491, **6**(4): 506-510.

Muthmainnah, R., Rubiyanto, D., dan Julianto, T.S., 2014, Formulasi Sabun Cair Berbahan Aktif Minyak Kemangi Sebagai Antibakteri dan Pengujian Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Indonesian Journal of Chemical research*, **1**(1): 44-50.

Naeini, A., dan Shokri, H., 2011, Chemical Composition and In Vitro Antifungal Activity of The Essential Oil From *Cuminum cyminum* Against Various *Aspergillus* Strains, *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(9):1702-1706.

Ngaisah, S., 2010, *Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dan Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz dan Pav) Asal Magelang*, (Skripsi), Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Noviyanti, Y., Pasaribu, S.P., dan Tarigan, D., 2014, Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Rambusa (*Passiflora foetida* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, ISSN 1693-5616, **12**(1): 31-36.

Palupi, K.T., Adiningsih, M.W., Sunartatie, T., Afiff, U., dan Purnawarman, T., 2010, Pengujian *Staphylococcus aureus* pada Daging Ayam Beku yang Dilalulintaskan Melalui Pelabuhan Penyebrangan Merak, *Indonesian Journal of Veterinary Science & Medicine*, **1**(2): 9-14.

Prasetyo, B., 2015, Identifikasi Gen Enterotoksin dan Exfoliatif Isolat *Staphylococcus aureus* Asal Susu Sapi Perah dan Susu Kambing dari Bogor, *Jurnal Matematika, Saint dan Teknologi*, **16**(2): 50-59.

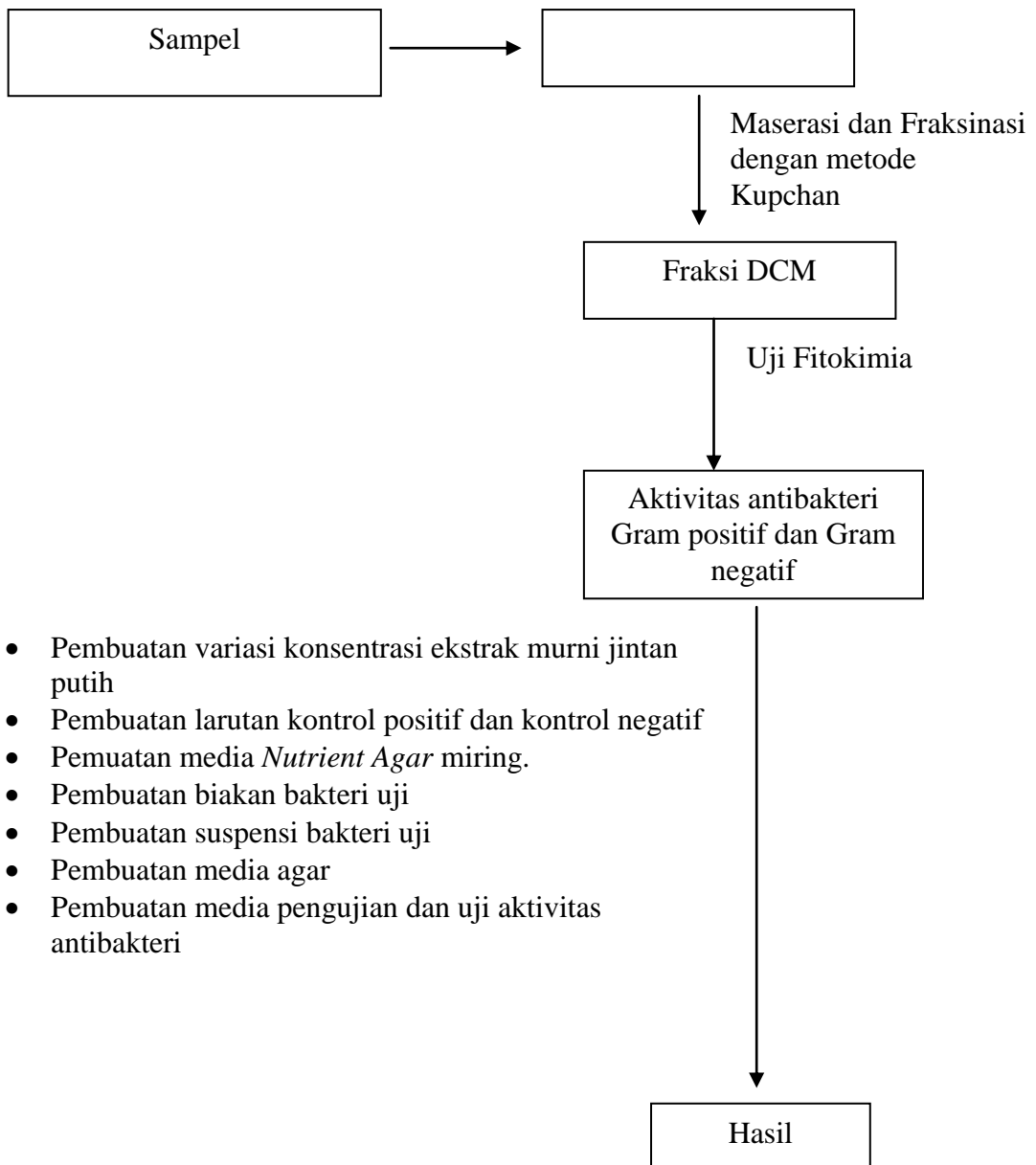
Ridawati., Jenie, B.S.L., Djuwita, I., dan Sjamsuridzal, W., 2011, Aktifitas Antifungal Minyak Atsiri Jinten Putih Terhadap *Candida parapsilosis* SS25, *C. Orthopsilosis* NN14, *C. Metapsilosis* MP27, dan *C. Etchellsii* MP18, *Makara Sains*, **15**(1):58-62.

Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, Mulyani, B., dan Rahmawati, C.P., 2014, Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk, *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*, ISBN:979363174-0: 271-280.

Sheikh, M.I., Islam, S., Rahman, A., Rahman, M., Rahman, M., Rahman, M., Rahim, A., dan Alam, F., 2010, Control of Some Human Pathogenic Bacteria by Seed Extracts of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) *Agriculture Conspectus Scientificus*, **75**(1):39-44.

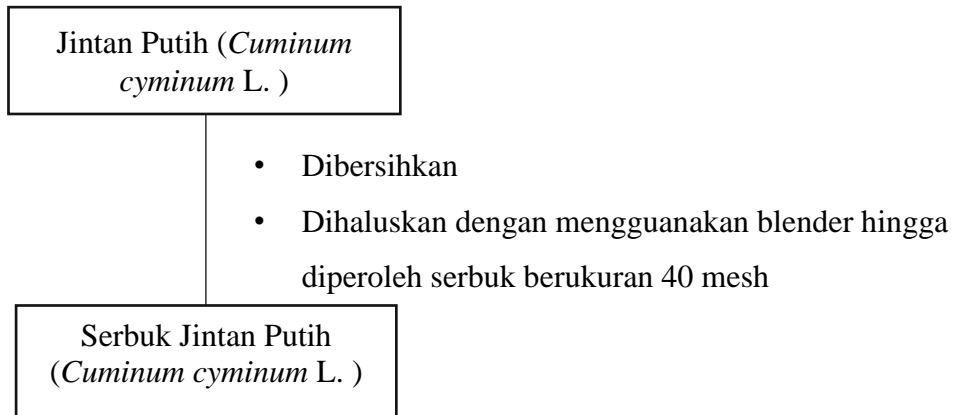
- Tanaya, V., Retnowati, R., dan Suratmo., 2015, Fraksi Semi Polar Dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm), *Kimia Studnt Journal*, **1**(1): 778-784.
- Todar, K., 2008, *Todar's Online Textbook Of Bacteriologi*, (Online), (<http://textbookofbacteriology.net/staph.html>, diakses 30 Maret 2017).
- WHO, 2000, *Penyakit Bawaan Makanan: Fokus Pendidikan Kesehatan*, Terjemahan Oleh dr. Andri Hatono, Sp.GK 2002, Erlangga, Jakarta.
- Zaenab, K., dan Abbas, S., 2011, Comparison of Biochemical Characterization in *Cuminum cyminum* and *Cuminum setifilium* Seeds, *International Journal of Science and Nature*, **2**(4):874-877.
- Zuhud, 2001., Aktivitas antimikroba ekstrak kedaun (*Parkia rexburghii* G Don) terhadap bakteri pathogen, *Tekmol dan Industri Pangan*, **12**(1): 6-12.

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian

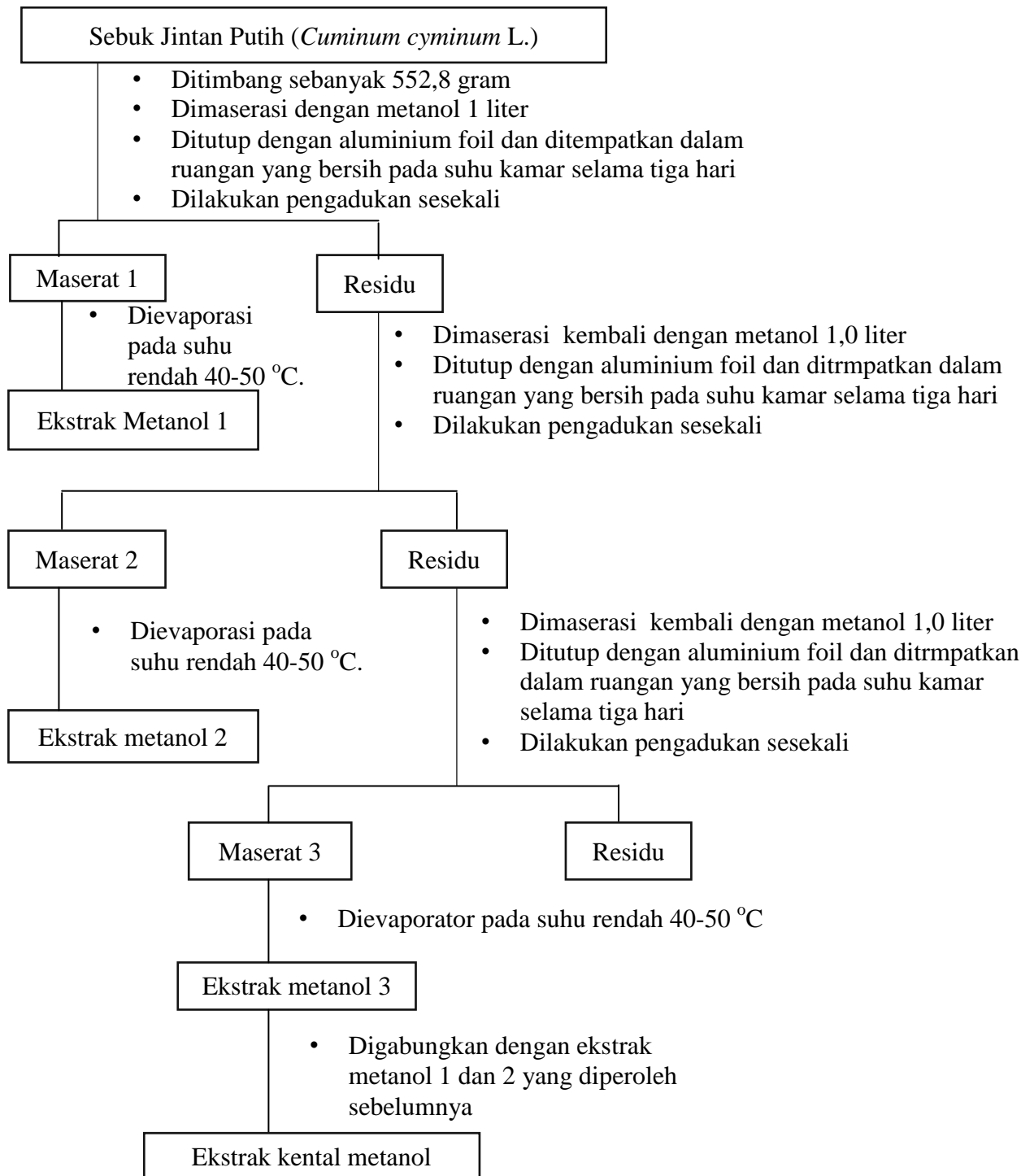


Lampiran 2. Skema Prosedur Kerja

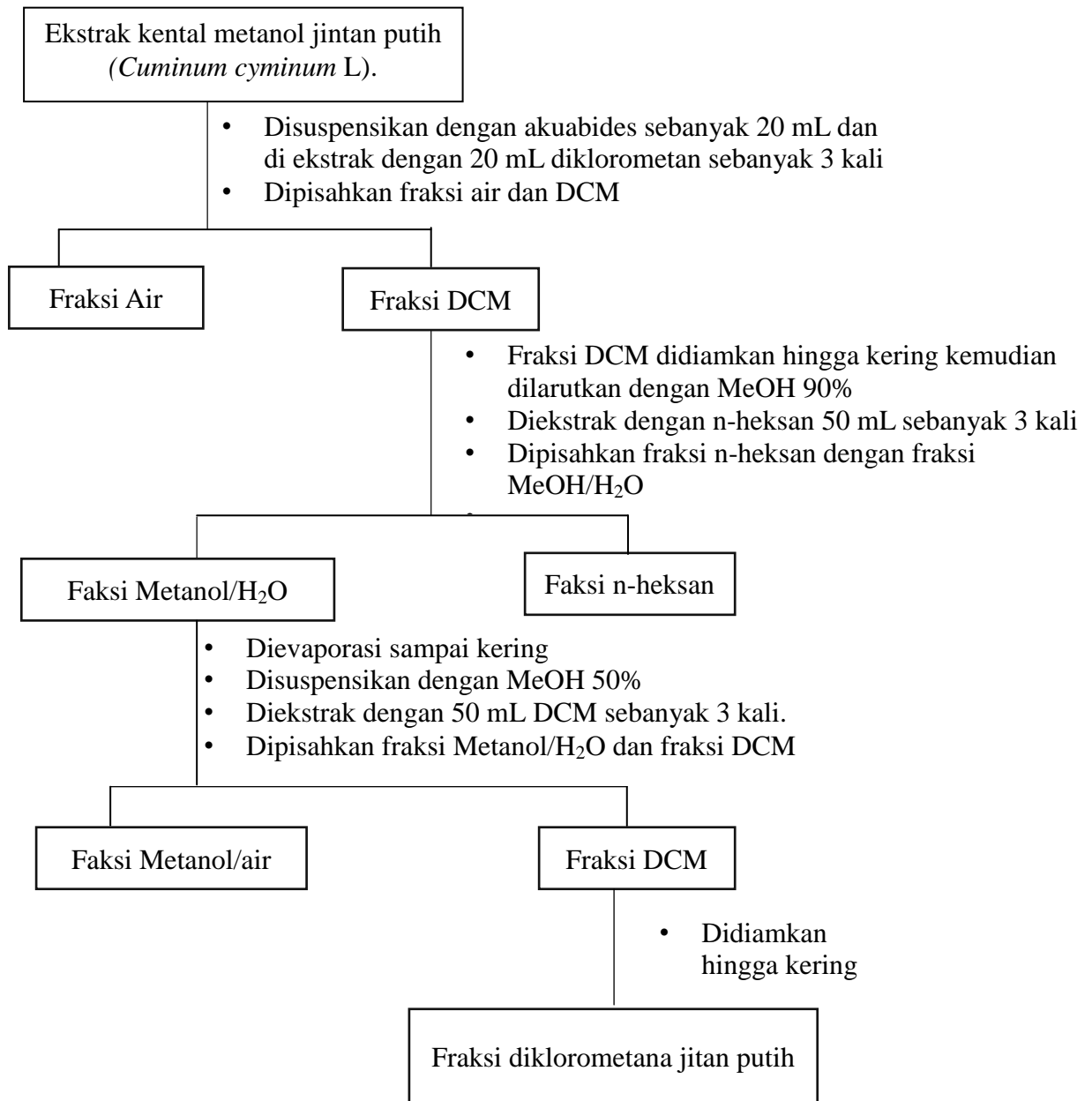
A. Pengolahan Sampel



B. Ekstraksi dan Isolasi Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.)



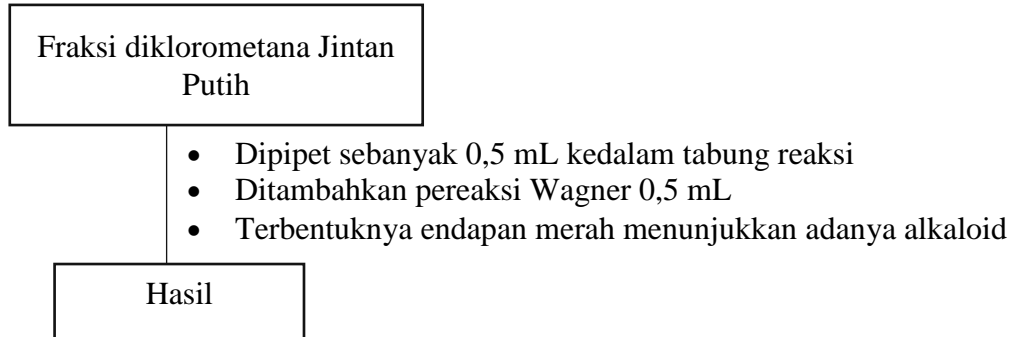
C. Fraksinasi Ekstrak kental Metanol



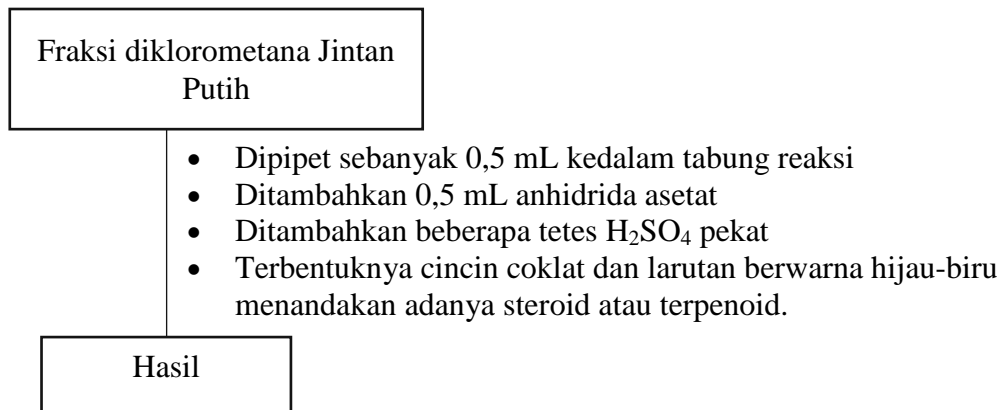
D. Uji Fitokimia

a. Alkaloid

- Uji Wagner

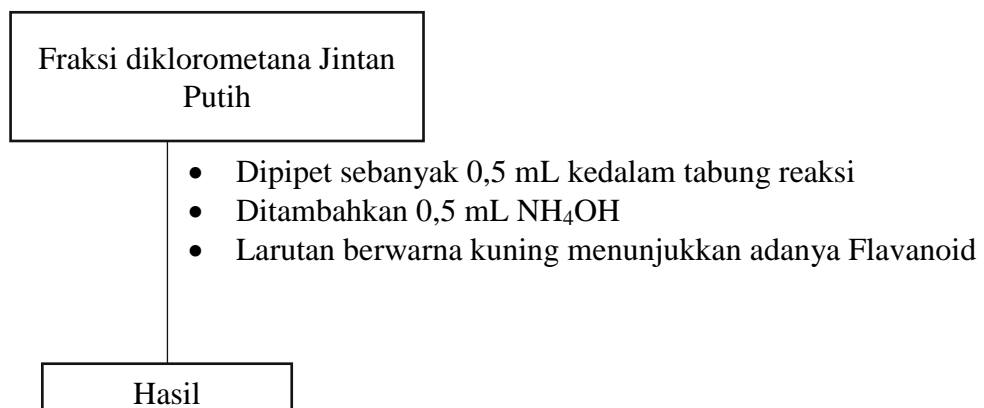


b. Terpenoid dan steroid

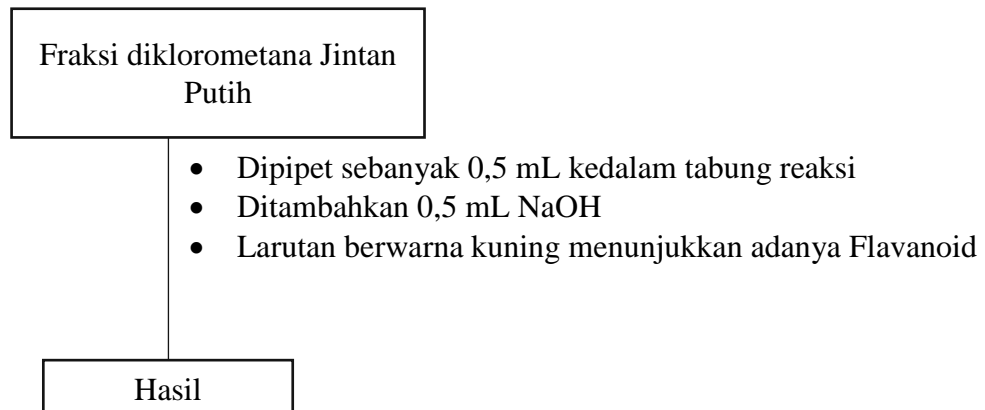


c. Flavanoid

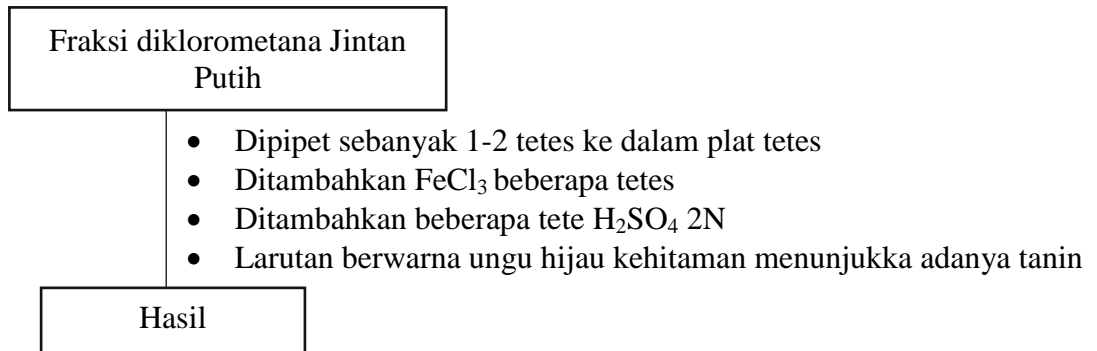
- Uji NH_4OH



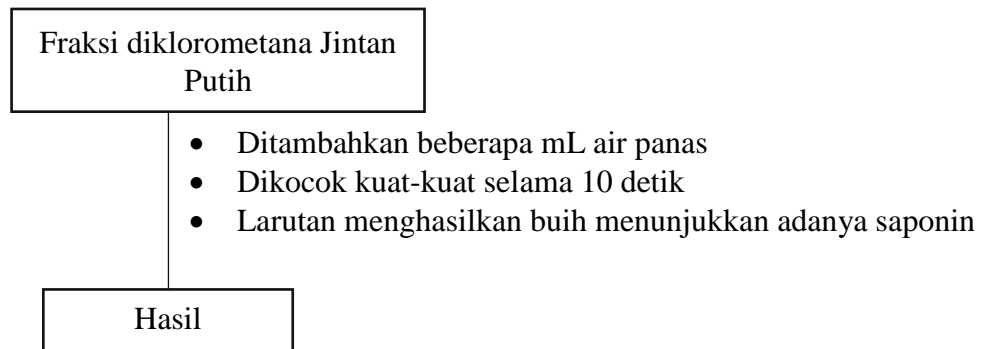
- Uji NaOH



d. Uji Tanin

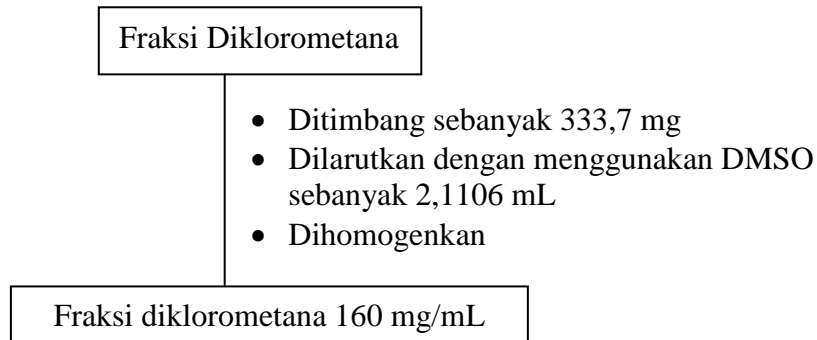


e. Uji Saponin

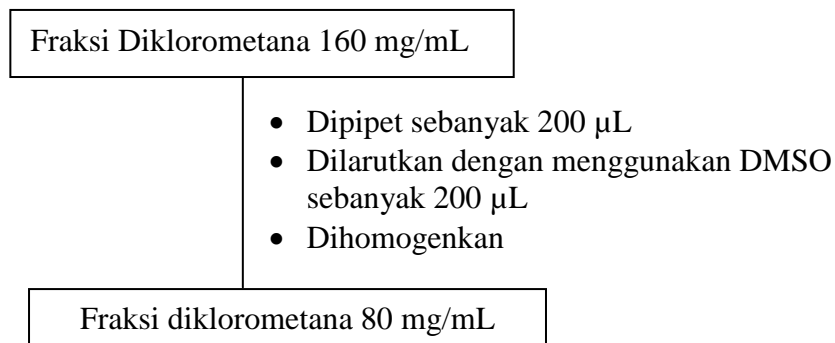


E. Pembuatan Variasi Konsentrasi Fraksi Diklorometana

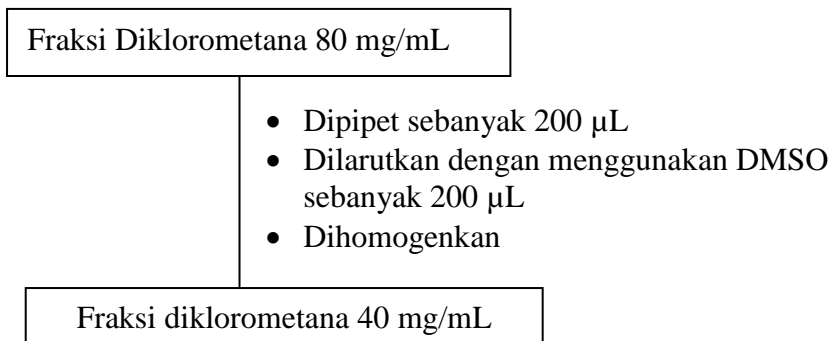
- Konsentrasi 160 mg/mL



- Konsentrasi 80 mg/mL



- Konsentrasi 40 mg/mL



- Konsentrasi 20 mg/mL

Fraksi Diklorometana 40 mg/mL

- Dipipet sebanyak 200 μ L
- Dilarutkan dengan menggunakan DMSO sebanyak 200 μ L
- Dihomogenkan

Fraksi diklorometana 20 mg/mL

- Konsentrasi 10 mg/mL

Fraksi Diklorometana 20 mg/mL

- Dipipet sebanyak 200 μ L
- Dilarutkan dengan menggunakan DMSO sebanyak 200 μ L
- Dihomogenkan

Fraksi diklorometana 10 mg/mL

F. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

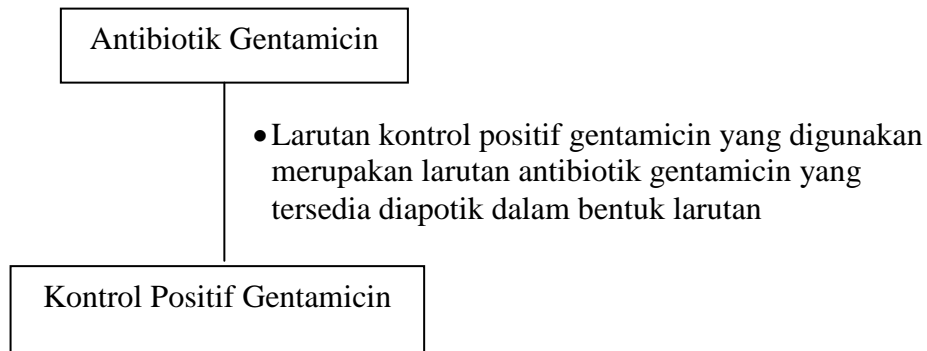
- Kloramfenikol 10 mg/mL

Antibiotik Kloramfenikol

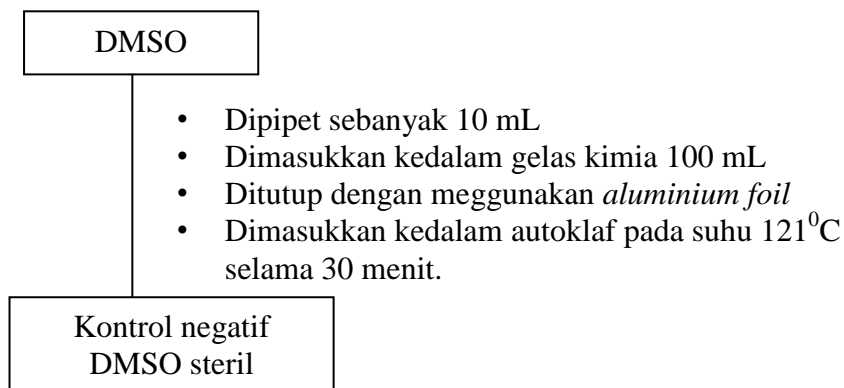
- Ditimbang sebanyak 250 mg
- Dimasukkan kedalam gelas kimia 100 mL
- Dilarutkan dengan akuabides steril sebanyak 25 mL
- Dihomogenkan

Kontrol positif kloramfenikol 10 mg/mL

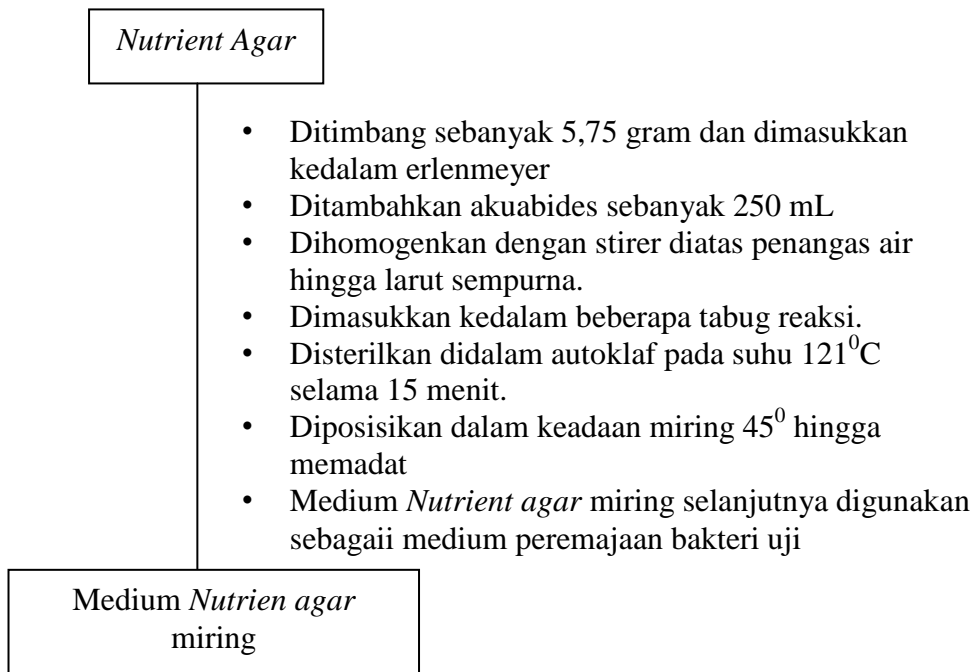
- Gentamicin



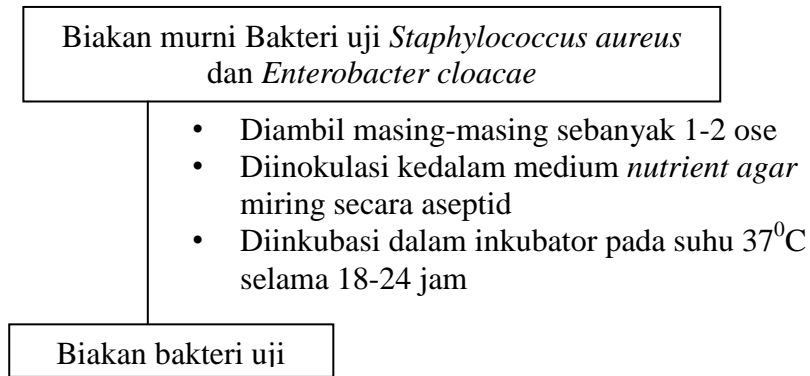
G. Larutan Kontrol Negatif DMSO Steril



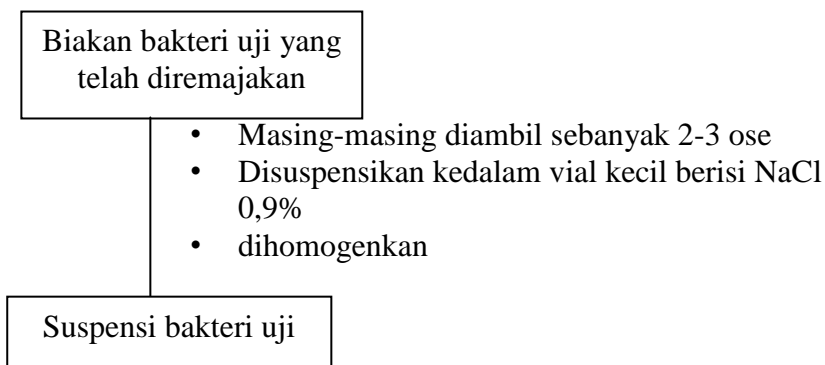
H. Pembuatan Medium *Nutrient Agar* Miring



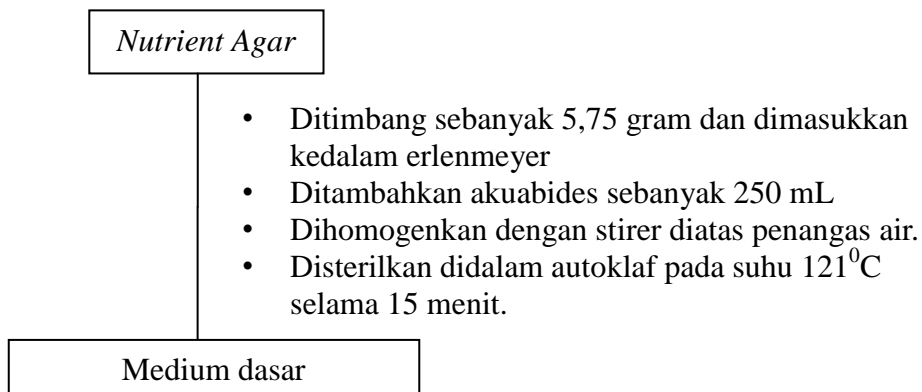
I. Peremajaan biakan bakteri Uji



J. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji



K. Pembuatan Medium Agar



L. Pembuatan Media Pengujian dan Uji Aktivitas Antibakteri

Media dasar *Nutrient Agar*

- Dituang ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 15 mL dan dibiarkan memadat.
- Setelah memadat, masing-masing cawan petri berisi media dasar digoreskan suspensi bakteri uji diatas media dasar secara aseptis.
- Disiapkan *blankdiscs* sebagai cakram kertas di cawan petri steril yang kosong.
- Ditetaskan larutan variasi konsentrasi fraksi diklorometana, larutan kontrol positif, dan larutan kontrol negatif sebanyak 20 μ L diatas *blankdiscs* berbeda kemudian didiamkan selama 15 menit hingga menyerap.
- *Blankdiscs* yang telah ditetesi kemudian diletakkan diatas media pengujian yang telah digoreskan suspensi bakteri uji secara aseptis
- Diatur jarak *blankdiscs* sedemikian rupa agar daerah pengamatan tidak saling bertumpuh.
- Cawan petri kemudian ditutup rapat menggunakan plastik *wrap*.
- Dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 2x24 jam
- Diamati zona bening yang terbentuk disekitar *blankdiscs*
- Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

A. Pembuatan Variasi Konsentrasi Fraksi diklorometana

- Konsentrasi 160 mg/mL

$$\text{Berat sampel} = 0,3377 \text{ gram}$$

$$= 337,7 \text{ mg}$$

$$\frac{337,7 \text{ mg}}{x} = 160 \text{ mg / mL}$$

$$X = \frac{337,7 \text{ mg}}{160 \text{ mg / mL}} = 2,1106 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat larutan konsentrasi 160 mg/mL sampel sebanyak 337,7 mg dilarutkan dalam 2,1106 mL DMSO.

- Konsentrasi 80 mg/mL

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 160 \text{ mg/mL} = 400 \mu\text{L} \times 80 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \frac{400 \mu\text{L} \times 80 \text{ mg/mL}}{160 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = \frac{32000 \mu\text{L}}{160}$$

$$V_1 = 200 \mu\text{L}$$

- Konsentrasi 40 mg/mL

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 80 \text{ mg/mL} = 400 \mu\text{L} \times 40 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \frac{400 \mu\text{L} \times 40 \text{ mg/mL}}{80 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = \frac{16000 \mu\text{L}}{80}$$

$$V_1 = 200 \mu\text{L}$$

- Konsentrasi 20 mg/mL

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 40 \text{ mg/mL} = 400 \mu\text{L} \times 20 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \frac{400 \mu\text{L} \times 20 \text{ mg/mL}}{40 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = \frac{8000 \mu\text{L}}{40}$$

$$V_1 = 200 \mu\text{L}$$

- Konsentrasi 10 mg/mL

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 20 \text{ mg/mL} = 400 \mu\text{L} \times 10 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = \frac{400 \mu\text{L} \times 10 \text{ mg/mL}}{20 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = \frac{4000 \mu\text{L}}{20}$$

$$V_1 = 200 \mu\text{L}$$

Lampiran 4. Tabel Data Hasil Penelitian

- Data hasil uji antibakteri fraksi diklorometan serbuk jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Konsetrasi Fraksi	Diameter Zona Hambat (mm)
1	10 mg/mL	6,2
2	20 mg/mL	6,525
3	40 mg/mL	8,425
4	80 mg/mL	12,075
5	160 mg/mL	16
6	KN	-
7	KP	23,825

Keterangan :

- KN = Kontrol negatif
- KP = Kontrol Positif
- = Tidak Menghambat

- Data hasil uji antibakteri fraksi diklorometan serbuk jintan putih (*Cuminum cyminum* L.) terhadap bakteri *Enterobacter cloacae*

No.	Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)
1	160 mg/mL	7,8
2	KN	7,8
3	KP	24,825

Keterangan :

- KN = Kontrol negatif
- KP = Kontrol Positif

Lampiran 5. Dokumentasi Hasil Penelitian



Serbuk biji jintan putih



Serbuk biji jintan putih yang telah dihaluskan



Proses maserasi serbuk jintan putih



Proses evaporasi ekstrak metanol jintan putih



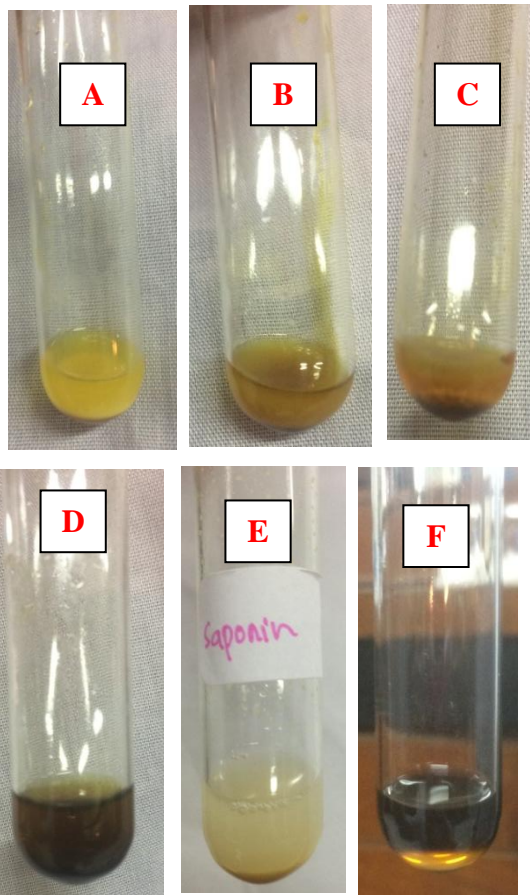
Ekstrak kental metanol Jintan Putih



Proses fraksinasi ekstrak metanol jintan putih



Fraksi diklorometana Jintan Putih



Hasil Pengamatan Uji fitokimia fraksi diklorometan ekstrak jintan putih
(*Cuminum cyminum* L.)

Keterangan :

- | | | | |
|---|---------------------------------------------------|---|----------------------|
| A | = Uji Flavanoid penambahan NH_4OH | D | = Uji Tanin |
| B | = Uji Flavanoid penambahan NaOH | E | = Uji Saponin |
| C | = Uji Alkaloid Wagner | F | = Uji Steroid/Terpen |



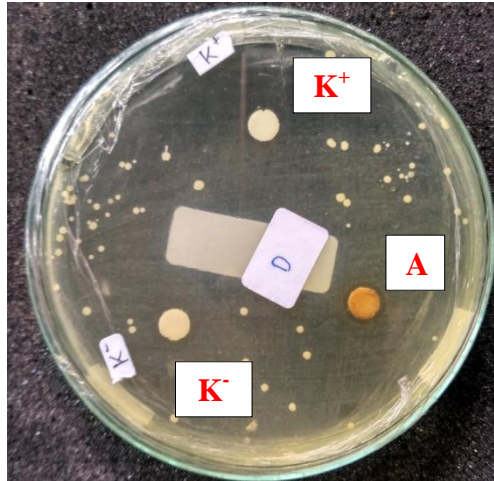
Proses uji aktivitas antibakteri fraksi diklorometan jintan putih



Kontrol positif klorampenikol



Kontrol positif gentamicin



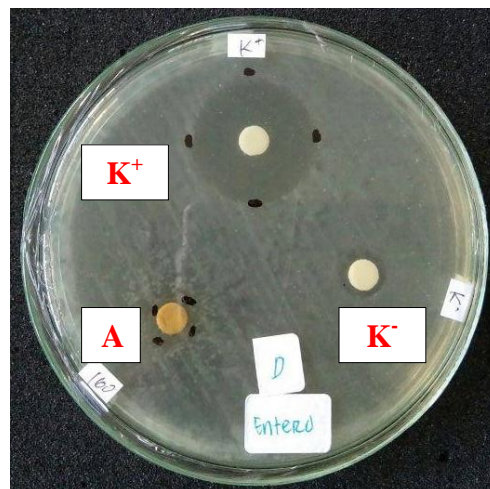
Hasil pengamatan Uji antibakteri fraksi diklorometan jintan putih terhadap bakteri Gram negatif *Enterobacter cloacae* dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif.

Keterangan :

A = Konst. Fraksi DCM 160 mg/mL

K⁺ = Kontrol Positif (kloramfenikol)

K⁻ = Kontrol Negatif (DMSO steril)



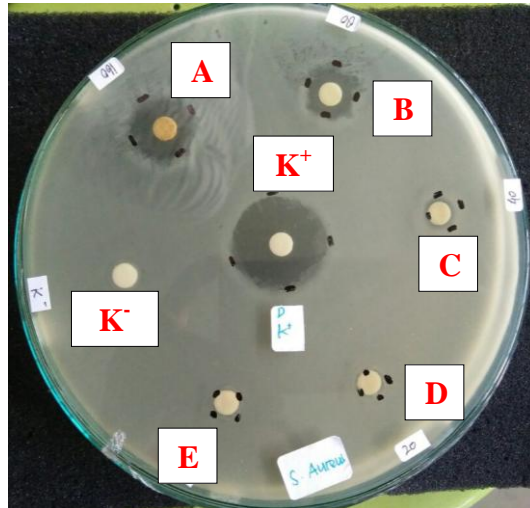
Hasil pengamatan Uji antibakteri fraksi diklorometan jintan putih terhadap bakteri Gram negatif *Enterobacter cloacae* dengan gentamicin sebagai kontrol positif.

Keterangan :

A = Konst. Fraksi DCM 160 mg/mL

K⁺ = Kontrol Positif (gentamicin)

K⁻ = Kontrol Negatif (DMSO steril)



Hasil pengamatan Uji antibakteri fraksi diklorometan jintan putih terhadap bakteri Gram negatif *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

A = Konst. Fraksi DCM 160 mg/mL

B = Konst. Fraksi DCM 80 mg/mL

C = Konst. Fraksi DCM 40 mg/mL

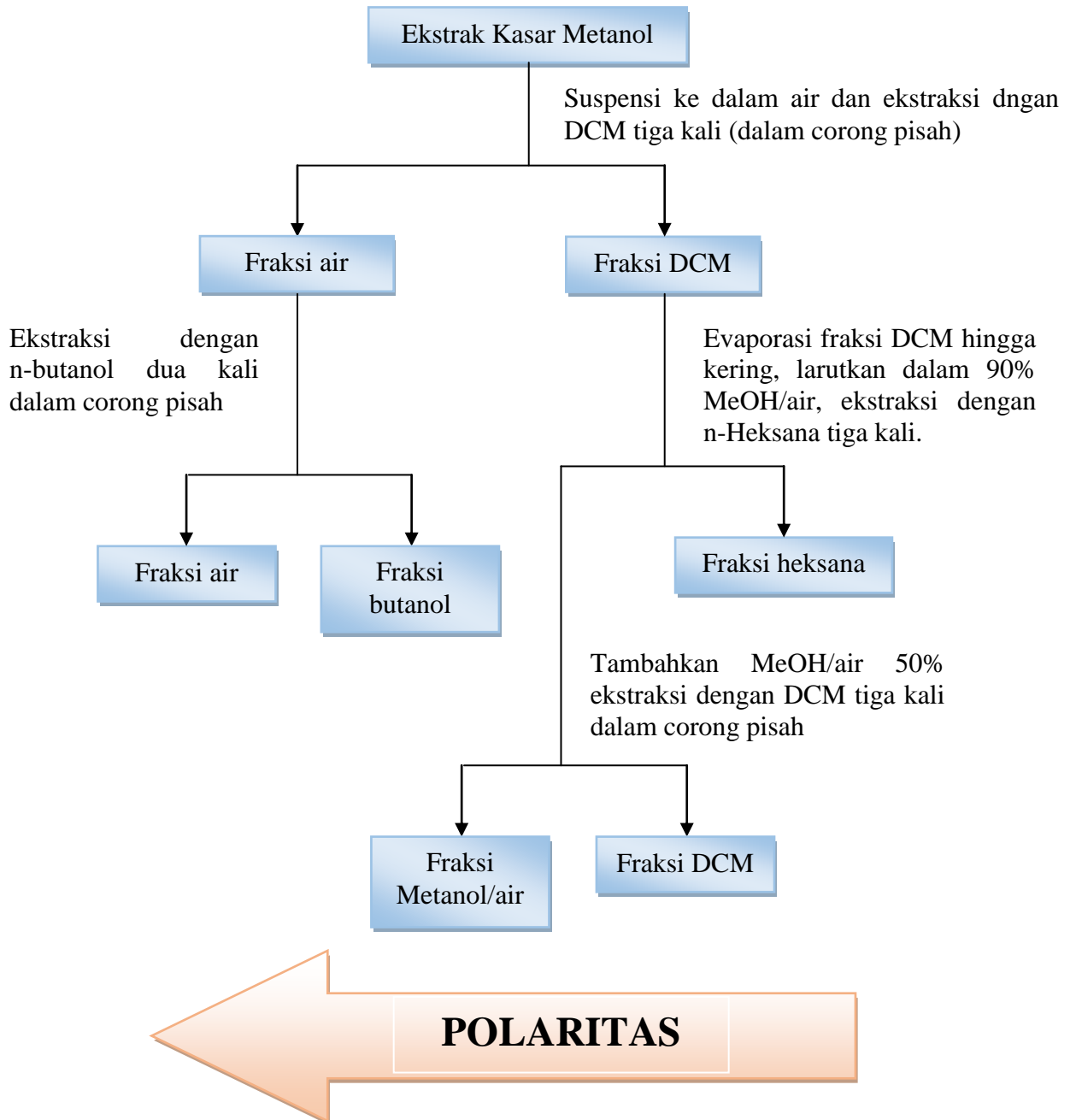
D = Konst. Fraksi DCM 20 mg/mL

E = Konst. Fraksi DCM 10 mg/mL

K⁺ = Kontrol Positif (kloramfenikol)

K⁻ = Kontrol Negatif (DMSO steril)

Lampiran 6. Metode Kupchan



Lampiran 7. Tabel Pelarut

SOLVENT MISCIBILITY TABLE

SOLVENT MISCIBILITY TABLE						
Solvent	Polarity Index	Refractive Index @20°C	UV (nm) Cutoff @1AU	Boiling Point (°C)	Viscosity (cPaise)	Solubility in water (%w/w)
Acetic Acid	6.2	1.372	230	118	1.26	100
Acetone	5.1	1.359	330	56	0.32	100
Acetonitrile	5.8	1.344	190	82	0.37	100
Benzene	2.7	1.501	260	80	0.55	0.18
n-Butane	4.0	1.394	254	125	0.73	0.43
Butyl Acetate	3.9	1.399	215	118	2.36	7.81
Carbon Tetrachloride	1.6	1.466	263	77	0.97	0.08
Chloroform	4.1	1.446	245	61	0.57	0.115
Cyclohexane	0.2	1.426	200	81	1.00	0.01
1,2-Dichloroethane ¹	3.5	1.444	225	84	0.79	0.41
Dichloromethane ¹	3.1	1.424	235	41	0.44	1.6
Dimethylformamide	6.4	1.431	268	153	0.32	100
Dimethyl Sulfoxide ¹	7.2	1.478	268	189	2.00	100
Dioxane	4.8	1.422	215	101	1.54	100
Ethanol	5.2	1.360	210	78	1.20	100
Ethyl Acetate	4.4	1.372	260	77	0.45	4.7
Diethyl Ether	2.8	1.353	220	35	0.32	6.19
Heptane	0.0	1.387	200	98	0.19	0.003
Hexane	0.0	1.375	200	69	0.33	0.001
Methanol	5.1	1.329	205	65	0.60	100
Methyl n-Butyl Ether ⁴	2.5	1.369	210	55	0.27	4.8
Methyl Ethyl Ketone ⁵	4.7	1.379	329	80	0.45	24
Pentane	0.0	1.358	200	36	0.23	0.004
n-Propanol	4.0	1.384	210	97	2.27	100
iso-Propanol ¹	3.9	1.377	210	82	2.30	100
Di-iso-Propyl Ether	2.2	1.368	220	68	0.37	
Tetrahydrofuran	4.0	1.407	215	65	0.55	100
Toluene	2.4	1.496	285	111	0.59	0.051
Trichloroethylene	1.0	1.477	273	87	0.57	0.11
Water	9.0	1.333	200	100	1.00	100
Xylene	2.5	1.500	290	138	0.61	0.019

<input checked="" type="checkbox"/> Immiscible	Synonym Table
<input type="checkbox"/> Miscible	¹ Ethylene Chloride
	² Methylene Chloride
	³ Methyl Sulfoxide
	⁴ tert-Butyl Methyl Ether
	⁵ 2-Butanone
	⁶ Xylohexanol

Immiscible means that in some proportions two phases will be produced

Solvent Polarity Chart

Relative Polarity	Compound Formula	Group	Representative Solvent Compounds
Nonpolar	R - H	Alkanes	Petroleum ethers, ligroin, hexanes
	Ar - H	Aromatics	Toluene, benzene
	R - O - R	Ethers	Diethyl ether
Increasing Polarity	R - X	Alkyl halides	Tetrachloromethane, chloroform
	R - COOR	Esters	Ethyl acetate
	R - CO - R	Aldehydes and ketones	Acetone, methyl ethyl ketone
	R - NH ₂	Amines	Pyridine, triethylamine
Polar	R - OH	Alcohols	Methanol, ethanol, isopropanol, butanol
	R - COHN ₂	Amides	Dimethylformamide
	R - COOH	Carboxylic acids	Ethanoic acid
	H - OH	Water	Water