

Analysis of Nicotine Content and Identification of Bioactive Compounds in Gayo-Origin Tobacco Leaf (*Nicotiana tabacum* L.) Extract Using GC–MS and Titration

Analisis Kadar Nikotin dan Identifikasi Senyawa Bioaktif pada Ekstrak Daun Tembakau Asal Gayo (*Nicotiana tabacum* L.) Menggunakan GC–MS dan Titrasi

Intan Sabila Putri Purba ^a, Supiyani ^{a,b,*}, Haris munandar Nasution ^a, Minda Sari Lubis ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

^b Forensic Laboratory Unit, North Sumatera Region, Indonesian National Police, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: supiyani@umnu.ac.id

Abstract

Gayo-origin tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.) are a locally cultivated tobacco variety widely grown in Central Aceh, Indonesia. Tobacco leaves are known to contain nicotine, a bioactive compound with various pharmacological and economic potentials. This study aimed to identify the nicotine content and phytochemical profile of Gayo tobacco leaf extract. The research procedures included sample collection, macroscopic and microscopic examinations, simplicia preparation, characterization of the simplicia and extract, phytochemical screening, quantitative nicotine determination using acidimetry titration, and qualitative analysis using Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS). Macroscopic examination showed that the leaves were oval to round in shape, broad-surfaced, green in color, with a characteristic odor and a bitter taste. Microscopic observation revealed the presence of vascular bundles, covering trichomes, and glandular hairs in the leaf fragments. The titrimetric test showed nicotine levels of $0.95 \pm 0.3\%$ in the simplicia powder and $1.87 \pm 0.45\%$ in the ethanol extract. GC–MS analysis identified several major compounds, including nicotine (20.99%) and Labda-8(20),13-dien-15-oic acid (29.85%) as dominant components, along with minor compounds such as Quinolin, 8-amino-6-hydroxy-Quinazoline (2.39%). These findings indicate that the Gayo tobacco leaf extract contains a relatively high level of nicotine and is dominated by alkaloid and diterpenoid acid derivatives, suggesting its potential for further phytochemical and pharmacological exploration.

Keywords: Nicotine; Gayo Tobacco Leaf; *Nicotiana tabacum* L.; Phytochemical Screening; GC–MS Analysis; Acidimetry Titration; Secondary Metabolites.

Abstrak

Daun tembakau asal Gayo (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan salah satu varietas tembakau lokal yang banyak dibudidayakan di wilayah Aceh Tengah. Daun tembakau diketahui mengandung senyawa nikotin yang memiliki berbagai aktivitas biologis dan nilai ekonomi tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan nikotin serta profil fitokimia ekstrak daun tembakau asal Gayo. Metode penelitian meliputi pengumpulan sampel, pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik, pembuatan simplisia, penentuan karakteristik simplisia dan ekstrak, skrining fitokimia, uji kuantitatif nikotin menggunakan titrasi asidimetri, serta analisis kualitatif menggunakan Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS). Hasil pemeriksaan makroskopik menunjukkan daun berbentuk lonjong hingga bulat dengan permukaan luas, berwarna hijau, berbau khas, dan memiliki rasa pahit. Pemeriksaan mikroskopik memperlihatkan adanya berkas pengangkut, rambut penutup, serta rambut kelenjar pada fragmen daun. Hasil uji titrasi menunjukkan kadar nikotin pada serbuk simplisia sebesar $0,95 \pm 0,3\%$ dan pada ekstrak etanol sebesar $1,87 \pm 0,45\%$. Analisis GC–MS mengidentifikasi beberapa senyawa utama, antara lain nikotin (20,99%) dan Labda-8(20),13-dien-15-oic acid (29,85%) sebagai komponen dominan, serta senyawa minor seperti Quinolin, 8-amino-6-hydroxy-Quinazoline

(2,39%). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tembakau asal Gayo mengandung nikotin dalam kadar cukup tinggi dan didominasi oleh senyawa golongan alkaloid serta turunan asam diterpenoid, yang berpotensi untuk dieksplorasi lebih lanjut dalam penelitian fitokimia dan farmakologi.

Kata Kunci: Nikotin; Daun Tembakau Gayo; *Nicotiana tabacum* L.; Skrining Fitokimia; GC-MS; Titrasi Asidimetri; Metabolit Sekunder,



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 09/06/2025,
Revised: 07/11/2025
Accepted: 07/11/2025
Available Online: 17/11/2025

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i4.1161>

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara agraris yang memiliki keanekaragaman hayati tinggi, di mana berbagai jenis tanaman dapat tumbuh subur, termasuk tembakau. Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan salah satu komoditas pertanian penting yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan telah lama menjadi bagian dari industri hasil tembakau di Indonesia [1]. Seiring berkembangnya industri tembakau dan produk turunannya, kebutuhan akan bahan baku berkualitas turut meningkat [2] [3].

Tembakau asal Gayo, dikenal secara lokal dengan sebutan *Bakong Gayo*, merupakan varietas tembakau yang banyak dibudidayakan di Kabupaten Aceh Tengah, Provinsi Aceh. Masyarakat setempat memanfaatkan daun tembakau Gayo terutama sebagai bahan rokok, yang dikenal memiliki aroma khas dan kualitas yang baik, sehingga sering disebut sebagai tembakau aromatik [3].

Secara kimiawi, daun tembakau mengandung berbagai metabolit sekunder, salah satunya adalah alkaloid nikotin. Nikotin merupakan senyawa utama yang secara alami terdapat pada tanaman dari famili *Solanaceae*, termasuk *Nicotiana tabacum* *solanaceae* [3]. Kandungan nikotin pada daun tembakau dapat bervariasi tergantung pada faktor genetik, kondisi lingkungan, teknik budidaya, serta metode pengolahan pascapanen [4][5]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kadar nikotin yang tinggi umumnya berbanding lurus dengan berat dan ketebalan daun, sedangkan jarak tanam yang terlalu rapat dapat menurunkan kadar nikotin akibat berkurangnya penyerapan nutrisi [6] .

Selain nikotin, tembakau juga mengandung berbagai senyawa fitokimia lain seperti flavonoid, terpenoid, fenol, dan saponin yang berpotensi memiliki aktivitas biologis penting [7];[8]. Oleh karena itu, analisis fitokimia diperlukan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa aktif tersebut secara kualitatif dan mendukung pemanfaatan tembakau di bidang farmasi maupun industri lainnya [2].

Proses ekstraksi berperan penting dalam memperoleh senyawa bioaktif dari bahan alam [2]. Pelarut etanol banyak digunakan karena mampu melarutkan senyawa polar maupun semi-polar secara efektif, serta aman digunakan dalam proses analisis fitokimia [9]. Metode ekstraksi yang tepat, diikuti dengan teknik analisis kimia seperti titrasi asidimetri dan *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC–MS), dapat memberikan gambaran komprehensif mengenai kandungan kimia suatu ekstrak [1,2]. Analisis GC–MS secara khusus mampu mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa volatil dengan sensitivitas tinggi berdasarkan rasio massa terhadap muatannya [11].

Penelitian sebelumnya terhadap daun tembakau umumnya berfokus pada analisis senyawa volatil dalam asap tembakau atau kandungan total alkaloid [2], namun masih terbatas dalam karakterisasi kimia ekstrak tembakau secara menyeluruh menggunakan GC–MS [11];[11]. Berdasarkan karakteristik lingkungan tumbuh dan klaim tradisionalnya, diduga bahwa tembakau Gayo memiliki profil fitokimia yang unik dan kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi [2]. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk

mengidentifikasi kandungan nikotin dan profil fitokimia ekstrak daun tembakau asal Gayo dengan menggunakan metode asidimetri untuk penetapan kadar nikotin dan analisis GC–MS untuk karakterisasi senyawa kimia, guna mengungkap potensi pemanfaatannya yang lebih luas di luar sekedar bahan baku rokok.

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental di laboratorium. Rancangan penelitian meliputi tahapan pengumpulan dan pengolahan sampel, pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik daun tembakau, pembuatan serta karakterisasi simplisia, skrining fitokimia untuk identifikasi senyawa metabolit sekunder, pembuatan ekstrak etanol daun tembakau melalui proses ekstraksi, penetapan kadar nikotin menggunakan metode titrasi asidimetri, serta analisis komponen kimia menggunakan *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC–MS).

Bahan dan Peralatan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) yang diperoleh dari Provinsi Aceh (daerah Gayo) sebagai sampel utama, serta berbagai bahan kimia untuk proses ekstraksi dan analisis, antara lain: etanol 96% sebagai pelarut ekstraksi, toluena, kloroform, asam klorida (HCl) 2N, aquadest, kalium iodida (KI), asam sulfat (H₂SO₄), raksa(II) klorida (HgCl₂), bismut(II) nitrat, α -naftol, asam nitrat (HNO₃) 0,5N, asam klorida pekat, besi(III) klorida (FeCl₃), timbal(II) asetat, asam asetat anhidrat, pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat untuk uji alkaloid, pereaksi Molish dan asam sulfat pekat untuk uji karbohidrat, natrium hidroksida (NaOH), petroleum eter, serta indikator metil merah (MM). Semua bahan kimia yang digunakan memiliki derajat kemurnian proanalisis (p.a).

Peralatan yang digunakan meliputi peralatan gelas laboratorium standar seperti gelas beaker, gelas ukur, labu takar, corong, pipet tetes, batang pengaduk, dan cawan penguap. Selain itu digunakan juga oven, tanur, desikator, blender, ayakan, timbangan analitik, penangas air (water bath), sonikator, sentrifus, serta peralatan mikroskopis seperti mikroskop cahaya, objek glass, dan cover glass untuk pemeriksaan mikroskopik. Untuk analisis kimia digunakan alat *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC–MS) Agilent Technologies GC System 7890B dengan *Mass Selective Detector* (MSD) 5977A – USA, yang berfungsi untuk mengidentifikasi komponen kimia dalam ekstrak daun tembakau berdasarkan pola spektrum massa.

Persiapan dan Pengolahan Sampel

Penelitian ini diawali dengan proses determinasi tumbuhan untuk memastikan kebenaran identitas bahan penelitian yang digunakan. Determinasi dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA), Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, di bawah verifikasi Dekan FMIPA. Sampel yang digunakan berupa daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) yang diperoleh dari wilayah Provinsi Aceh, tepatnya di Kecamatan Putri Betung, Desa Pungke. Daun tembakau segar yang telah dikumpulkan kemudian melalui tahap pengolahan awal yang meliputi sortasi basah dan pencucian menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran serta bahan asing lain yang menempel pada permukaan daun. Setelah proses pencucian, sampel ditiriskan dan dilakukan penimbangan berat basah sebelum dilanjutkan ke tahap pembuatan simplisi [13].

Pembuatan Simplisia

Sebanyak kurang lebih 1,5 kg daun tembakau yang telah dikumpulkan, dicuci bersih dengan air mengalir, disortasi basah dipilih bagian daun yang bagus untuk pembuatan simplisia, kemudian ditimbang dan diperoleh kurang lebih 1.000g daun tembakau segar yang sudah bersih dari tanah atau kotoran yang menempel pada daun, kemudian daun tembakau di rajang, kemudian dimasukkan dalam lemari pengering dengan suhu 40-50°C. Setelah kering simplisia disortasi untuk memisahkan pengotoran yang menempel selama pengeringan. Setelah disortasi simplisia diserbukkan dengan menggunakan blender, diayak dan ditimbang berat keringnya, dan di dapat kurang lebih 300 g, Serbuk simplisia disimpan dalam wadah kering untuk mencegah lembab dan pengotoran lainnya sebelum di ekstraksi [14]

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) dilakukan untuk mengetahui mutu bahan baku yang digunakan. Pemeriksaan meliputi pengamatan makroskopik, mikroskopik, serta penetapan parameter spesifik dan nonspesifik sesuai standar Materia Medika Indonesia [15];[16]. Pemeriksaan makroskopik dilakukan terhadap warna, bentuk, ukuran, bau, dan rasa daun, sedangkan pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan meletakkan serbuk simplisia pada kaca objek, ditetesi kloralhidrat, dan diamati di bawah mikroskop cahaya. Penetapan kadar air dilakukan dengan metode azeotropi menggunakan destilasi toluena untuk menentukan kadar air residual dalam simplisia. Uji kadar sari larut dalam air dan kadar sari larut dalam etanol dilakukan dengan metode maserasi selama 24 jam untuk mengetahui senyawa yang terekstraksi dalam pelarut polar dan semi-polar. Selanjutnya, kadar abu total dan kadar abu tidak larut dalam asam ditetapkan untuk mengukur kandungan mineral dan residu anorganik pada simplisia. Hasil pengujian karakteristik ini digunakan sebagai dasar penilaian mutu dan kemurnian simplisia daun tembakau sebelum tahap ekstraksi etanol dilakukan [2].

Pembuatan Larutan Pereaksi

Berbagai larutan pereaksi disiapkan untuk mendukung tahap analisis fitokimia dan karakterisasi simplisia daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). Pereaksi Bouchardat dibuat dengan melarutkan 4 g kalium iodida dalam 20 mL akuades, kemudian ditambahkan 2 g iodium sedikit demi sedikit dan diencerkan hingga 100 mL. Pereaksi Mayer disiapkan dengan melarutkan 1,596 g raksa(II) klorida dalam 60 mL akuades dan 5 g kalium iodida dalam 10 mL akuades, lalu kedua larutan dicampur dan diencerkan hingga 100 mL. Pereaksi Dragendorff dibuat dengan melarutkan 0,85 g bismut(II) nitrat dalam 20 mL asam nitrat, serta 8 g kalium iodida dalam 20 mL akuades; kedua larutan dicampur, dibiarkan hingga terpisah sempurna, dan bagian jernihnya diencerkan hingga 100 mL. Pereaksi Molish disiapkan dengan melarutkan 3 g α -naftol dalam asam nitrat 0,5 N hingga volume 100 mL. Larutan asam klorida 2 N dibuat dengan mengencerkan 17 mL asam klorida pekat hingga 100 mL, sedangkan pereaksi besi(III) klorida 1% disiapkan dengan melarutkan 1 g FeCl_3 dalam 100 mL akuades. Larutan timbal(II) asetat 0,4 M dibuat dengan melarutkan 15,17 g timbal(II) asetat dalam akuades bebas CO_2 hingga 100 mL. Pereaksi kloralhidrat disiapkan dengan melarutkan 50 g kloralhidrat dalam 20 mL akuades. Pereaksi Liebermann–Bouchardat diperoleh dari campuran 20 mL asam asetat anhidrat dan 1 mL asam sulfat pekat. Larutan asam nitrat 0,5 N dibuat dengan mengencerkan 3,84 mL asam nitrat hingga 100 mL, sedangkan pereaksi metil merah disiapkan dari campuran 50 mg metil merah, 1,86 mL natrium hidroksida 0,1 M, dan 50 mL etanol, kemudian diencerkan dengan air hingga 100 mL [17,18].

Pembuatan Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.)

Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Sebanyak 200 g serbuk simplisia daun tembakau dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi etanol 96% dengan perbandingan 1:7,5 (b/v) yaitu sebanyak 1500 mL. Campuran diaduk sesekali dan dibiarkan selama 5 hari. Setelah itu, campuran diserkai dan diperas dengan kain flanel untuk mendapatkan maserat I. Ampas yang tersisa dibilas dengan etanol 96% sebanyak 500 mL, dan maserat II yang dihasilkan digabungkan dengan maserat I. Gabungan maserat kemudian diultrasonikasi (dilakukan dengan frekuensi 40 kHz dan daya 150 W) selama 30 menit untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa aktif. Selanjutnya, larutan disentrifugasi pada 3000 $\times$ g selama 10 menit untuk memisahkan cairan dari residu padat. Filtrat yang diperoleh disaring dengan kertas saring Whatman No. 42 dan dipekatkan menggunakan water bath pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental [19];[20].

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) untuk mengidentifikasi golongan metabolit sekunder yang meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid, dan glikosida. Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan asam klorida 2 N dan memanaskan sampel, kemudian filtrat diuji menggunakan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff; terbentuknya endapan putih, coklat, atau jingga menunjukkan hasil positif. Uji flavonoid dilakukan dengan pereaksi logam magnesium dan asam klorida pekat, menghasilkan warna merah, jingga, atau kuning pada lapisan amil alkohol. Uji tanin dilakukan dengan penambahan pereaksi besi(III) klorida yang menghasilkan warna biru kehitaman atau hijau kehitaman [3]. Uji saponin dilakukan dengan mengocok larutan ekstrak hingga terbentuk buih stabil yang tidak hilang setelah penambahan asam klorida 2 N. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid dilakukan menggunakan pereaksi Liebermann–Burchard, di mana warna ungu kemerahan menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan warna biru kehijauan menunjukkan adanya

steroid. Uji glikosida dilakukan dengan refluks menggunakan campuran etanol dan asam klorida, kemudian hasilnya direaksikan dengan pereaksi Molish dan asam sulfat pekat; terbentuknya cincin berwarna coklat keunguan pada batas kedua lapisan menandakan adanya glikosida [4]. Skrining ini bertujuan untuk memberikan gambaran awal komponen bioaktif yang terkandung dalam simplisia dan ekstrak etanol daun tembakau [17,21,22];[23].

Uji Kualitatif Ekstrak Daun Tembakau menggunakan metode Analisis GCMS

Analisis sampel dilakukan dengan menggunakan GC-MS Agilent Technologies GC System 7890B yang dilengkapi dengan Mass Selective Detector (MSD) 5977A. Kolom yang digunakan adalah DB-5MS (30 m x 0,250 mm x 0,25 µm). Gas pembawa adalah Helium dengan flow rate 1 mL/menit. Sampel ekstrak etanol diinjeksikan sebanyak 1 µL dengan split ratio 20:1. Suhu injector ditetapkan pada 250°C dan suhu ion source pada 230°C. Program temperatur oven dimulai dari 100°C, kemudian dinaikkan dengan laju 15°C/menit hingga 290°C, dan ditahan selama 5 menit. Identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan spektrum massa yang diperoleh dengan spektrum massa referensi dari pustaka Wiley 11.L. Suatu senyawa dilaporkan teridentifikasi jika memiliki tingkat kemiripan (*similarity index*) minimal 90% [20].

Penetapan Kadar Nikotin Menggunakan Metode Titrasi Asidimetri

Penetapan kadar nikotin pada daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) dilakukan dengan metode titrasi asidimetri yang diawali dengan proses standardisasi larutan asam klorida (HCl) menggunakan larutan standar boraks 0,1000 N. Larutan boraks disiapkan dengan melarutkan 10,645 g boraks dalam akuades hingga volume 1000 mL, sedangkan larutan HCl 0,1 N dibuat dengan melarutkan sekitar 8–9 mL HCl pekat ke dalam akuades hingga 1000 mL. Sebanyak 25 mL larutan boraks dipipet ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL, ditambahkan 2–3 tetes indikator metil merah, kemudian dititrasi dengan larutan HCl hingga titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna) [24]. Sampel daun tembakau ditimbang secara seksama sebanyak ±1 g, dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer bertutup asah, lalu ditambahkan 1 mL larutan natrium hidroksida dalam alkohol (perbandingan 3:1) dan 20 mL petroleum eter. Campuran dikocok dan dibiarkan selama 1,5 jam hingga terbentuk dua lapisan, kemudian lapisan jernih diambil sebanyak 10 mL dan diuapkan hingga tersisa sekitar 1 mL [5]. Setelah itu, ditambahkan 10 mL akuades dan 3 tetes indikator metil merah muda, kemudian dilakukan titrasi menggunakan larutan standar HCl 0,1 N hingga terjadi perubahan warna yang menandakan titik akhir titrasi. Hasil titrasi digunakan untuk menghitung kadar nikotin dalam sampel daun tembakau [25].

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Identifikasi Tumbuhan

Tembakau awalnya berasal dari Amerika dan dibawa ke Indonesia oleh bangsa Portugis dan Belanda sekitar abad ke-17. Sejak itu, tembakau mulai ditanam secara luas, terutama di daerah Deli (Sumatera Utara) dan Temanggung (Jawa Tengah), karena dianggap bernilai ekonomi tinggi. Di Indonesia, dua jenis tembakau yang umum dibudidayakan adalah *Nicotiana tabacum* L., yang biasa digunakan untuk rokok dan cerutu, serta *Nicotiana rustica*, yang sering dipakai untuk keperluan tradisional. Beberapa daerah terkenal dengan tembakau khasnya, seperti Deli, Temanggung, Madura, dan Lombok. Masing-masing punya rasa dan kegunaan yang berbeda[26] [27].

Tumbuhan daun tembakau yang digunakan dalam penelitian ini telah dilakukan determinasi di Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, Medan. Berdasarkan hasil identifikasi, diketahui bahwa sampel termasuk dalam famili Solanaceae, dengan genus *Nicotiana* dan spesies *Nicotiana tabacum* L. Tumbuhan ini diklasifikasikan secara taksonomi ke dalam Kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, Kelas Dicotyledoneae, dan Ordo Solanales. Secara lokal, spesies ini dikenal dengan nama Tembakau Gayo. Hasil determinasi ini memastikan bahwa bahan yang digunakan dalam penelitian merupakan daun tembakau sejati dari varietas Gayo, sehingga keaslian dan validitas sampel dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah

Hasil Pengolahan Sampel Tumbuhan

Sampel daun tembakau yang telah dikumpulkan didapatkan bobotnya sebanyak 1000 gram, setelah dilakukan pengeringan dengan suhu 50°C maka diperoleh bobot simplisia sebanyak 300 gram dan hasil

susut pengeringan didapatkan sebesar 70%. Tujuan ketentuan susut pengeringan adalah memberikan batasan maksimal (rentang) besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Hasil susut pengeringan berkurangnya berat simplisia tidak saja karena kadar air, namun juga ada beberapa zat atau senyawa lain yang hilang dan menguap.

Hasil Karakteristik Simplisia

Hasil dari karakterisitik simplisia yaitu pada pengujian makroskopik, bentuk fisik dari simplisia daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) yaitu bewarna hijau, tidak berbau, rasa pahit.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan Karakteristik Simplisia

No	Pengujian	Hasil Rata-Rata	Standar (FHI 2017)	Keterangan
1	Kadar Air	6%	< 11,7%	Memenuhi Syarat
2	Kadar Sari larut dalam air	30%	> 8,1%	Memenuhi Syarat
3	Kadar sari larut dalam etanol	18,3%	> 2,8%	Memenuhi Syarat
4	Kadar abu total	11,5%	< 14%	Memenuhi Syarat
5	Kadar abu tidak larut asam	0,4%	< 0,7%	Memenuhi Syarat

Keterangan > :Tidak kurang dari

< :Tidak lebih dari

Pada penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan rentang tentang besarnya kandungan air yang terkandung dalam bahan dinyatakan dalam persen. Hasil dari penetapan kadar air simplisia daun tembakau diperoleh kadar persentase 6%. Kadar air dalam sampel simplisia tidak boleh lebih dari 11,7% karena kelebihan air dalam simplisia akan mendorong pertumbuhan mikroorganisme dan kapang (jamur), reaksi pembusukan, reaksi enzimatik, yang pada akhirnya diikuti oleh reaksi hidrolisis senyawa kimia dalam simplisia. Metode yang digunakan dalam penetapan kadar air yaitu metode destilasi azeotrop. Prinsip metode destilasi ini adalah penggabungan dua buah pelarut yang memiliki titik didih berbeda serta kepolaran berbeda [28]

Pada pengujian kadar sari larut dalam air serbuk simplisia daun tembakau dilakukan dengan dua pelarut yaitu air dan etanol. Penetapan kadar sari larut dalam air bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa kimia bersifat polar yang terkandung dalam simplisia, sedangkan penetapan kadar sari larut etanol dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa larut dalam etanol, baik senyawa polar maupun non polar. Hasil karakterisitik serbuk simplisia daun tembakau untuk persentase kadar sari larut dalam air sebesar 30%, sedangkan untuk pengujian kadar sari larut dalam etanol serbuk simplisia tembakau diperoleh persentase kadar sebesar 18,3% [29]. Hasil kadar yang didapatkan ini memenuhi persyaratan dimana untuk kadar sari yang larut dalam air tidak kurang dari 8,1% dan kadar sari yang larut dalam etanol tidak kurang dari 2,8% [30].

Pada pengujian kadar abu total serbuk simplisia daun tembakau didapatkan persentase kadar sebesar 11,5% dan untuk pengujian kadar abu tidak larut asam didapatkan persentase kadar sebesar 0,4%. Hasil penetapan kadar abu ini memenuhi persyaratan dimana untuk kadar abu total tidak lebih dari 14% dan kadar abu yang tidak larut dalam asam tidak lebih dari 0,7 % [19,31]. Penentuan kadar abu total untuk mengetahui kandungan mineral internal, abu yang terbentuk dari abu fisiologi merupakan abu yang berasal dari jaringan tanaman. Kadar abu tidak larut dalam asam menggambarkan banyaknya jumlah silika dalam simplisia yang berasal dari pasir dan tanah [30].

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia daun tembakau yang meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid dan glikosida pada tabel dibawah ini.

Pada serbuk simplisia dan ekstrak daun tembakau yang diuji pertama yaitu pengujian alkaloid dimana terdapat 3 pengujian yaitu pengujian dengan pereaksi Mayer, Bouchardat dan Dragendorff. Pada pengujian pertama dengan pereaksi Mayer menunjukkan hasil yang positif karena terbentuk endapan berwarna kuning atau putih. Kemudian pengujian kedua dengan pereaksi Bouchardat menunjukkan hasil yang positif karena membentuk endapan coklat hitam. pengujian ketiga dengan preaksi Dragendorff

menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga. Dari hasil yang didapat dapat disimpulkan bahwa simplisia dan ekstrak daun tembakau positif mengandung alkaloid, terjadinya reaksi pengendapan akibat adanya pergantian ligan dalam alkaloid adanya atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas akan menggantikan ion iodo dalam pereaksi Dragendorff [5]. Kemudian akan terbentuk endapan berwarna jingga ketika alkaloid direaksikan dengan Dragendorff dan endapan kuning atau putih ketika direaksikan dengan pereaksi Mayer [32].

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Sampel	Komponen Fitokimia	Hasil Pengamatan	Hasil Pengujian
Serbuk Simplisia Daun tembakau	Alkaloid	Mayer :Endapan Kuning Dragendorff : Endapan jingga Bouchardat : Endapan coklat	+
	Flavonoid	Kuning, lapisan jingga	+
	Tanin	Kuning, Hijau kehitaman	+
	Saponin	Terbentuk Busa : 2 cm	+
	Steroid dan triterpenoid	Steroid : Hijau	+
	Glikosida	Terbentuk Cincin Ungu	+
Ekstrak Etanol Daun Tembakau	Alkaloid	Mayer :Endapan Kuning Dragendorff : Endapan jingga Bouchardat : Endapan coklat	+
	Flavonoid	Kuning, lapisan jingga	-
	Tanin	Kuning, Hijau kehitaman	-
	Saponin	Terbentuk Busa : 1,5 cm	-
	Steroid dan triterpenoid	Steroid: Hijau	+
	Glikosida	Terbentuk Cincin Ungu	-

Keterangan : (+) = positif
(-) = negative

Pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif karena terbentuknya warna jingga, kuning pada lapisan amil alkohol, dikarenakan penambahan serbuk Mg dan asam klorida pekat yang dapat mereduksi benzopiron dalam struktur senyawa flavonoid sehingga terbentuk warna merah tua jingga [32].

Pengujian tanin menunjukkan hasil positif terbentuknya warna hijau kehitaman dikarenakan penambahan FeCl_3 perubahan warna ini terjadi akibat bereaksinya FeCl_3 dengan salah satu gugus hidroksi pada senyawa tanin [32].

Hasil positif pada pengujian saponin karena buih yang terbentuk setelah pengocokan bertahan lama setinggi 3 cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N, dikarenakan didalam saponin memiliki senyawa aktif kuat yang berperan sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan bocornya metabolit yang menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan membran sitoplasma dapat mencegah masuknya bahan makanan atau nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri untuk menghasilkan energi akibatnya bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian [23].

Pengujian triterpenoid/steroid didapatkan hasil positif steroid didasarkan karena penambahan oleh asam sulfat pekat, dengan membentuk warna ungu sampai merah ungu menunjukkan adanya triterpenoid dan terbentuknya warna biru hijau menunjukkan adanya steroid, pembentukan warna terjadi karena terdapatnya gugus kromofor (gugus tak jenuh) yang akan absorpsi pada panjang gelombang tertentu oleh suatu senyawa [33]. Hasil pengujian glikosida dinyatakan positif dengan penambahan pereaksi Molish dan asam sulfat adanya senyawa dengan terbentuknya cincin ungu, dimana glikosida yang ditunjukkan oleh hasil skrining merupakan glikosida steroid yang mekanisme antibakterinya sama dengan saponin dalam menghancurkan sel bakteri [23].

Menurut Handayani et al., 2020, senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, steroid/triterpenoid, flavonid, dan saponin merupakan senyawa kimia yang memiliki potensi sebagai antibakteri [34]. Senyawa yang bersifat antibakteri bekerja menghambat pertumbuhan bakteri melalui berbagai kerusakan pada struktur bakteri [35].

Hasil Penetapan Kadar Nikotin Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Berdasarkan volume titran HCl 0,0976 N yang digunakan dalam titrasi, dapat dihitung kadar nikotin (%) dalam sampel dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ nikotin} = \frac{v \text{ titrasi} - v \text{ blanko} \times fp \times 0,162 \times 0,0976}{W} \times 100\%$$

Keterangan :
 v titrasi = volume titran HCl (ml)
 v blanko = volume blanko (ml)
 fp = faktor pengenceran
 W = bobot sampel (gram)

Tabel 3. Hasil analisis kadar nikotin dalam tembakau Gayo

No	Sampel Tembakau	Bobot Sampel (gram)	Volume Hcl (ml)	Kadar Nikotin Dalam Sampel	Rata-Rata
1	Serbuk	1,000	0,45	1,04 %	0,95 ± 0,29%
		1,000	0,50	1,20%	
		1,000	0,32	0,63%	
2	Ekstrak	1,000	0,52	1,89 %	1,87 ± 0,45 %
		1,000	0,42	1,42%	
		1,000	0,61	2,32%	

Berdasarkan hasil penelitian, kadar nikotin dalam ekstrak etanol tembakau Gayo (1,87%) lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dalam serbuk simplisia (0,95%). Hal ini membuktikan bahwa proses ekstraksi dengan maserasi-ultrasonikasi berhasil menarik senyawa nikotin dari dalam sel tanaman secara lebih efisien. Jika dibandingkan dengan varietas tembakau lain, kadar nikotin tembakau Gayo ini tergolong sedang-tinggi. Sebagai perbandingan, penelitian Tumbel (2010) pada tembakau Tongka dari Bantaeng melaporkan kadar nikotin sekitar 1.05%, sementara tembakau Virginia dapat memiliki kadar di atas 3% [25]. Variasi kadar nikotin ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain genetik varietas, kondisi lingkungan tumbuh (ketinggian, suhu, dan jenis tanah di Dataran Tinggi Gayo), tingkat kematangan daun saat panen, dan yang paling utama dalam konteks ini adalah metode ekstraksi yang digunakan. Tingginya kadar nikotin dalam ekstrak ini mengonfirmasi potensi tembakau Gayo sebagai sumber senyawa alkaloid, yang tidak hanya relevan bagi industri hasil tembakau tetapi juga untuk eksplorasi lebih lanjut di bidang farmasi, misalnya sebagai bahan baku insektisida alami atau agen terapi pengganti nikotin (*Nicotine Replacement Therapy/NRT*), tentu dengan memperhatikan aspek toksisitasnya

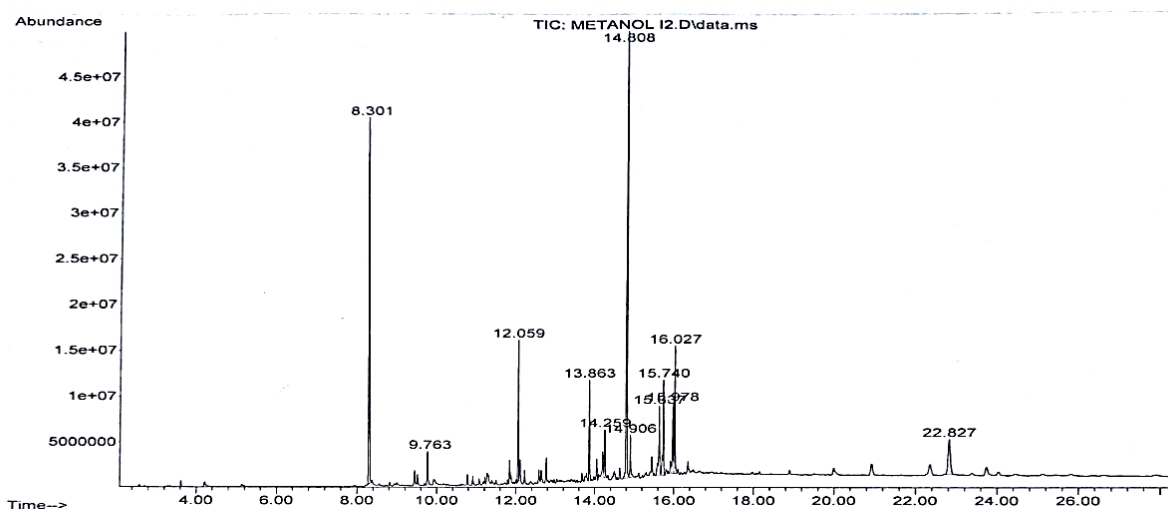
Petani gayo menyebutkan tembakau ini merupakan tembakau aromatik yang digunakan sebagai bahan baku dalam pengobatan tradisional dan kurang mengetahui kandungan nikotin dalam tembakau asal Gayo. Maka dari itu di gunakan metode titrasi asidimetri sebagai penetapan kadar nikotin dalam tembakau dan dapat diketahui melalui titrasi asam basa asidimetri. Pada reaksi penetralan asam basa, nikotin ($C_{10}H_{14}N_2$) yang merupakan alkaloid yang bersifat basa lemah bereaksi dengan HCl akan mengikat satu atom H^+ dan melepaskan ion Cl^- . Reaksi ini terjadi pada kisaran pH 6,0 - 6,2 (asam kuat) sehingga dipakai indikator methyl red, titik ekuivalen titrasi diketahui dengan terbentuknya warna merah muda yang konstan. Titik ekuivalen merupakan keadaan dimana jumlah mol asam sama dengan jumlah mol basa atau semua asam telah dinetralkan oleh sejumlah basa. Ketika salah satu zat (asam atau basa) telah ada secara berlebihan, indikator mengalami perubahan warna sehingga proses titrasi harus segera dihentikan dan disebut titik akhir titrasi [36].

Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Daun Tembakau Pada GCMS

Pada spektrum Gas Chromatography jika sampel mengandung banyak senyawa terlihat dari banyaknya puncak (*peak*). Berdasarkan data waktu retensi yang sudah diketahui dari literatur, bisa diketahui senyawa apa saja yang ada dalam sampel. Hal ini dapat dilaksanakan karena salah satu kegunaan dari kromatografi gas adalah untuk memisahkan senyawa senyawa dari suatu sampel. Lalu dilakukan dengan memasukkan senyawa yang didapat tersebut ke dalam instrumen spektroskopi massa.

Analisis GC-MS berhasil mengidentifikasi sepuluh senyawa utama dalam ekstrak etanol tembakau Gayo. Hasil ini secara kuat mendukung dan memperkaya temuan dari skrining fitokimia. Identifikasi nikotin (20,99%) sebagai senyawa utama kedua mengonfirmasi hasil uji positif untuk alkaloid dan hasil

kuantitatif dari titrasi. Selain itu, keberadaan senyawa-senyawa seperti Neophytadiene, Trans-phytol, Trans-caryophyllene, Beta-humulene, Longifolenaldehyde, dan Labda-8(20),13-dien-15-oic acid menjelaskan dasar kimiawi dari uji positif untuk golongan triterpenoid/steroid. Stigmasterol, yang juga teridentifikasi, adalah fitosterol yang umum ditemukan pada tanaman dan juga termasuk dalam golongan steroid.



Gambar 1. Kromatogram ekstrak etanol tembakau

Tabel 4. Daftar Analisis Mass Spektrometri

Nomor Senyawa	RT (min)	Area (%)	Library/ID
1	8.301	20.99	Nicotine
2	12.059	6.82	Neophytadiene
3	13.863	5.14	Trans-phytol
4	14.256	2.86	Peruvial
5	14.808	29.85	Labda-8 (20), 13-dien-15-oic acid
6	14.906	2.68	Trans-caryophyllene
7	15.740	6.26	Beta-humulene
8	15.978	4.52	Longifolenaldehyde
9	16.027	7.63	1,2-pentanediol,5-(6-bromodecahydro-2-hdroxy-2,5,5a,8a-tetramethyl-1-napthalenyl)-3-methylene
10	22.827	5.71	Stigmasterol

Dua senyawa dominan, Nikotin dan Labda-8(20),13-dien-15-oic acid, bersama dengan senyawa lainnya, membentuk profil fitokimia yang menjanjikan. Nikotin, selain dikenal sebagai senyawa adiktif, dalam bidang farmasi telah diteliti potensinya sebagai agen neuroprotektif dan dalam terapi pengganti nikotin. Senyawa Labda-8(20),13-dien-15-oic acid (29,85) merupakan suatu asam diterpenoid. Beberapa senyawa dari golongan labdane dilaporkan dalam literatur memiliki aktivitas biologis yang beragam, termasuk antimikroba dan sitotoksik [37]. Senyawa tambahan dengan persentase luas puncak yang lebih kecil yaitu 1,2-pentanediol,5-(6-bromodecahydro-2-hdroxy-2,5,5a,8a-tetramethyl-1-napthalenyl)-3-methylene (7,63%), Neophytadiene (6,82%), Beta-humulene (6,26), Stigmasterol (5,71%), Trans-phytol (5,14%), Longifolenaldehyde (4,52), Peruvial (2,86%), dan Trans-caryophyllene (2,68%) telah terdeteksi dalam ekstrak tembakau asal Gayo. Adanya senyawa Labda-8(20),13-dien-15-oic acid dalam tembakau dapat menyebabkan efek toksik dan iritasi pada saluran pernapasan jika terbakar dan asapnya terhirup [37]. Toksisitas yang spesifik untuk senyawa ini pada tembakau Gayo memerlukan penelitian toksikologi lebih lanjut untuk memastikannya, mengingat efek suatu senyawa sangat bergantung pada dosis, bentuk paparan, dan matriksnya.

Senyawa-senyawa lain yang teridentifikasi juga memiliki potensi bioaktivitas yang signifikan. Neophytadiene dilaporkan memiliki aktivitas anti-inflamasi dan antinosiseptif. Trans-phytol, prekursor

vitamin E dan K, diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba. Stigmasterol banyak dipelajari perannya dalam menurunkan kadar kolesterol dan memiliki aktivitas antikanker. Keberadaan ensemble senyawa-senyawa bioaktif ini—alkaloid, diterpenoid, dan terpenoid pada ekstrak tembakau Gayo menunjukkan bahwa potensi pemanfaatannya mungkin tidak hanya bergantung pada satu senyawa tunggal, tetapi dapat timbul dari efek sinergis dari berbagai senyawa yang terkandung di dalamnya. Komposisi yang didominasi oleh senyawa volatil dan semi-volatil ini juga menjadi dasar ilmiah bagi aroma khas yang menjadi ciri tembakau aromatik Gayo. Ketika dibandingkan dengan tembakau dari daerah lain, profil tembakau Gayo ini ditandai dengan dominannya Labda-8(20),13-dien-15-oic acid, yang mungkin berkontribusi pada karakteristik sensori dan biologinya yang unik. Temuan ini membuka peluang untuk penelitian lanjutan, seperti isolasi senyawa murni, uji aktivitas biologis (antioksidan, antibakteri, anti-inflamasi) secara in vitro dan in vivo, serta standarisasi ekstrak berdasarkan senyawa marker utama untuk menjamin kualitas dan konsistensinya.

Ekstrak etanol dari tembakau asal Gayo mengandung berbagai komponen fitokimia yang menunjukkan waktu retensi berbeda-beda. Perbedaan ini disebabkan oleh variasi polaritas senyawa saat berinteraksi dengan fase diam dalam kolom kromatografi, selain itu, berat molekul senyawa juga mempengaruhi dalam proses pemisahannya. Berdasarkan uraian tersebut Komponen senyawa aktif sangat penting diketahui untuk pemanfaatan dalam bidang kesehatan. Salah satu cara untuk mendeteksi keradaan senyawa aktif yang dimiliki oleh ekstrak daun tembakau dapat dilakukan dengan menggunakan gas kromatografi spektrofotometri massa (GC-MS) yang merupakan teknik kromatografi gas yang digunakan bersama dengan spektrometri massa. Penggunaan Kromatografi gas dilakukan untuk mencari senyawa yang mudah menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah jika dipanaskan. Sedangkan spektrometri massa untuk menentukan bobot molekul, rumus molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan [38].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) asal Gayo memiliki kandungan fitokimia yang signifikan dan berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut. Temuan utama penelitian ini adalah kadar nikotin yang tergolong sedang-tinggi (1,87%) serta identifikasi profil fitokimia yang unik yang didominasi oleh senyawa golongan alkaloid (nikotin) dan diterpenoid (Labda-8(20),13-dien-15-oic acid), diikuti oleh berbagai senyawa bioaktif lain seperti sterol (stigmasterol) dan terpenoid (neophytadiene, trans-phytol). Keberadaan ensemble senyawa-senyawa ini tidak hanya menjadi dasar ilmiah bagi klaim kualitas dan aroma khas tembakau Gayo sebagai tembakau aromatik, tetapi juga mengindikasikan potensi biologis yang dapat dieksplorasi di luar sektor konvensional

Conflict of Interest

Penelitian ini dilaksanakan secara independen dan objektif, tanpa konflik kepentingan maupun intervensi dari pihak mana pun.

Acknowledgment

Penelitian ini terselenggara berkat dukungan berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muslim Nusantara atas fasilitas dan bantuan yang diberikan.

Referensi

- [1] Sari DY. Effectiveness Test Of Tobacco Leaves Extract in Resolving Growth of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Lasiodiplodia theobromae*. Gontor AGROTECH Science Journal 2020;6:473. <https://doi.org/10.21111/agrotech.v6i3.5013>.
- [2] Supiyani S, Saisa S, Ningtias A. Phytochemical identification of Gayo tobacco or bakong Gayo (*Nicotiana tabacum* L) and its potency for industrial applications. Justek: Jurnal Sains Dan Teknologi 2023;6:505–12.

- [3] Supiyani, Saisa, Anggitha Ningtias. Phytochemical identification of Gayo tobacco or bakong Gayo (*Nicotiana tabacum* L) and its potency for industrial applications 2023;6:505–12. <https://doi.org/10.31764/justek.vXiY.ZZZ>.
- [4] Chaudhary NK, Chaudhary A, Shakya M, Limbu DK, Oli P Sen. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Piper betle L. and *Nicotiana tabacum* L. across Dharan, Nepal. vol. 7. 2023.
- [5] Florentika R, Kurniawan W. Analisis Kuantitatif Tar dan Nikotin Terhadap Rokok Kretek yang Beredar di Indonesia 2022;2:22–32. <https://doi.org/10.54384/er>.
- [6] Razali M, Taufik M, Atiqah ED, Wanto R, Daulay AS, Ardilla D, et al. Relationship of Tobacco Weight in Commercial Cigarettes to Nicotine Levels, Scitepress; 2022, p. 621–5. <https://doi.org/10.5220/0010614800002775>.
- [7] Dzaky RD, Sudibjo. Perbandingan Pengaruh Paparan Asap Rokok Konvensio. PMJ Prominentia Medical Journal 2021;2:27–34.
- [8] Yati K, Gozan M, Mardiasut M, Anggia V, Prastiwi R, Jufri M. Phytochemical Evaluation and Antioxidant Activity of Virginia tobacco Leaves (*Nicotiana tabacum* L. var *virginia*) Fractions with DPPH and FTC Methods. Pharmacognosy Journal 2022;14:544–8. <https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.69>.
- [9] Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. antibiotics Review Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review 2021. <https://doi.org/10.3390/antibiotics>.
- [10] Cocco E, Farci D, Guadalupi G, Manconi B, Maxia A, Piano D. The elongation factor 1- α as storage reserve and environmental sensor in *Nicotiana tabacum* L. seeds. Plant Science 2024;345. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112113>.
- [11] Al-Dahhan WH, Kadhom M, Yousif E, Mohammed SA, Alkaim A. Extraction and Determination of Nicotine in Tobacco from Selected Local Cigarettes Brands in Iraq. Letters in Applied NanoBioScience 2022;11:3278–90. <https://doi.org/10.33263/LIANBS11.32783290>.
- [12] Sari DY. Effectiveness Test Of Tobacco Leaves Extract in Resolving Growth of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Lasiodiplodia theobromae*. Gontor AGROTECH Science Journal 2020;6:473. <https://doi.org/10.21111/agrotech.v6i3.5013>.
- [13] Arsyad R, Amin A, Waris R. Teknik Pembuatan Dan Nilai Rendamen Simplisia Dan Ekstrak Etanol Biji Bagore (*Caesalpinia crista* L.) Asal Polewali Mandar. Makassar Natural Product Journal 2023;1:2023–138.
- [14] Puspita Sari R, Teokarsa Laoli M, Studi PS, Imelda Medan Stik, Bilal No J, Pulo Brayan Darat Kecamatan Medan Timur KI, et al. Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Serta Analisis Secara KLT (Kromatografi Lapis Tipis) Daun Dan Kulit Buah Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.). Maret 2019;2:59–68.
- [15] Nasri N, Kaban VE, Gurning K, Syahputra HD, Satria D. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. INSOLOGI: Jurnal Sains Dan Teknologi 2022;1:252–9. <https://doi.org/10.55123/insologi.v1i3.438>.
- [16] Depkes RI. Cara pembuatan simplisia. Depkes: Jakarta 1985.
- [17] RI D. Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
- [18] DepKes. Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1. 2013. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- [19] Departemen Kesehatan Indonesia. Farmakope Indonesia Edisi III. 1979.
- [20] Supiyani, Saisa. GCMS Analysis of Bakong Gayo or Gayo Tobacco (*Nicotiana tabacum* L) Leaves Extract and Pharmaceutical Uses. Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST-UNIMED 2023;07:95–103.
- [21] Khoiriyah I. Pengaruh Formulasi Sediaan Infusa Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Mencit Betina (*Mus musculus*). 2023.
- [22] Khoiriyah A, Sumardi S, Busman H. Identification and Pathogenicity of *Escherichia coli* from Cloacal Swabs. Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu 2022;10:323–32.
- [23] Dasopang ES. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sangitan (*Sambucus javanica* Reinw) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dan *Salmonella thypi* Scrining Fitochemism And Test of Antibacterial Activity of Extract Etanol Leaf Leaves (*Sambucus javanica* Reinw) on Growth Bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella thypi*. vol. 4. Medan Helvetia, Kota Medan: 2017.

- [24] Wiryawan KG, Luvianti S, Hermana W, Suharti S. Peningkatan performa ayam broiler dengan suplementasi daun salam [*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp] sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. Media Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor 2007;30.
- [25] Tumbel M. Analisis Kadar Nikotin dalam Tembakau Tongka Kabupaten Bantaeng Analisis Kadar Nikotin dalam Tembakau Tongka Kabupaten Bantaeng (Analysis on The Concentrate of Nicotine in "Tembakau Tongka " of District Bantaeng). Makassar: 2010.
- [26] Sunaryo T. Kretek Pusaka Nusantara. Edisi Pertama. Serikat Kerakyatan Indonesia (SAKTI); 2013.
- [27] Hamdani N. Tembakau Deli. Edisi Pertama. Banda Aceh: Balai Pelestarian Sejarah dan Nilai Tradisional Banda Aceh; 2011.
- [28] Rumaseuw ES, Vera Estefania Kaban, Agung Wibawa Mahatva Yodha, Yulianita Pratiwi Indah Lestari, Asti Vebriyanti Asjur, Muh Taufiqurrahman, et al. Farmakognosi. Edisi pertama. Padang Sumatera Barat: PT Global Eksekutif Teknologi; 2023.
- [29] Lubis MS, Ayuningrum A, Rahmi S, Zulhij F. Efektivitas Anti-Aging Dalam Sediaan Serbuk Masker Wajah Dengan Kombinasi Ampas Tahu-Kolang Kaling. Jurnal Farmanesia 2022;9:1–15.
- [30] Rizki AFadillah, HMNasution, YPRRY. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber Zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) Terhadap *Propionibacterium Acnes* Dan *Escherichia Coli*. Journal of Health and Medical Science 2023;2:5–15.
- [31] Direktorat Jendral POM. Materia Medika Indonesia Jilid VI. Departemen Kesehatan RI: Jakarta Hal 1989. <https://doi.org/10.9734/IJBCRR/2017/32764>.
- [32] Lismandaria N, Elysa Putri Mambang D, Munandar Nasution H, Putri Rahayu Y. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sedingin (*Kalanchoe pinnata* (Lam) Pers) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* Antibacterial Activity Test Of Cold Leaf Ethanol Extract (*Kalanchoe pinnata* (Lam) Personal) Against Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium*. vol. 3. 2023.
- [33] Nugroho W, Rosmainar L, Toepak EP, Kimia P, Mipa F, Raya P, et al. Skrining Fitokimia Dan Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH Pada Ekstrak Metanol Buah Terung Asam Besar (*Solanum Ferox* Linn). vol. 5. 2023.
- [34] Handayani SN, Purwanti A, Windasari W, Ardian MN. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.). Walisongo Journal of Chemistry 2020;3:66. <https://doi.org/10.21580/wjc.v3i2.6119>.
- [35] Nasution HM, Yuniarti R, Rani Z, Nursyafira A. Phytochemical screening and antibacterial activity test of ethanol extract of jengkol leaves (*Archidendron pauciflorum* Benth.) IC Nielsen against *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. International Journal of Science, Technology & Management 2022;3:647–53.
- [36] Leba MAU, Komisia F, Tukan MB. Karakter pigmen daun adam hawa ungu (*Tradescantia pallida*) sebagai indikator pH. Jurnal Penelitian Sains 2023;25:174–9.
- [37] Heo CS, Kang JS, Yang JW, Lee MA, Lee HS, Shin HJ. Labdane-Type Diterpenoids from *Streptomyces griseorubens* and Their Antimicrobial and Cytotoxic Activities. Int J Mol Sci 2024;25. <https://doi.org/10.3390/ijms25063311>.
- [38] Muflihunna A, Mu'nisa A. Studi Literatur Analisis Antioksidan Terhadap Fotoprotektif Kulit Dari Beberapa Jenis Tanaman. Prosiding Seminar Nasional Biologi FMIPA UNM, vol. 23, 2023, p. 2023.