

Pengaruh Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi
(*Nicotiana tabaccum L.*) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut
(*Effect Of Low Nicotine Flavonoid Extract Of Kasturi's Tobacco Leave Waste*
(*Nicotiana Tabaccum L*) On
The Growth Of Oral Microbe)

Ika Ayu Fatimah, Banun Kusumawardani, Zahara Meilawaty, Agustin Wulan Suci D
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Jalan Kalimantan 37 Kampus Tegalboto Jember, Jawa Timur 68121
e-mail: ikaa771@gmail.com

Abstract

Background: Kasturi's tobacco is a type of tobacco, that grown in Bondowoso and Jember. One of the active ingredients in tobacco that can be used as an antibacterial and antifungal are flavonoids, but tobacco contains nicotine which is toxic. **Objective:** To determine the effect of low nicotine flavonoid extract of Kasturi's tobacco leave waste (*Nicotiana tabaccum L*) on the growth of *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), and *Candida albicans* (*C. albicans*). **Method:** An laboratory experimental research used Kasturi's tobacco leave waste that extracted with hydrolysis and reflux method to dissolve nicotine and take flavonoids. Extract concentration 320 mg/mL, 160 mg/mL, and 80 ug/mL tested antimicrobial activity against *S. mutans*, *P. gingivalis*, and *C. albicans* by disc diffusion method and incubated for 24 and 48 hours. **Result:** At the 24 hour incubation, flavonoid extract concentrations 80 mg/mL had the best inhibitory zone at three microbial, with mean diameter < 9mm for *S. mutans*, mean diameter > 16mm for *P. gingivalis*, and mean diameter < 9mm for *C. Albicans*. **Conclusion:** Low nicotine flavonoid extract of Kasturi's tobacco leave waste have low inhibitory effect against *S. mutans*, strong inhibitory effect on *P. gingivalis*, and low inhibitory effect on *C. albicans*.

Keyword: *Candida albicans*, flavonoid extract, Kasturi's tobacco leave, *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*

Abstrak

Latar Belakang: Tembakau Kasturi merupakan jenis tembakau yang banyak dibudidayakan di daerah Jember dan Bondowoso, Jawa Timur. Bahan aktif yang terkandung dalam tembakau yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan antijamur adalah flavonoid, namun tembakau memiliki kandungan nikotin yang toksik. **Tujuan:** Mengetahui pengaruh ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), dan jamur *Candida albicans* (*C. albicans*). **Metode:** Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris menggunakan limbah daun tembakau Kasturi yang diekstrak dengan metode hidrolisis dan reflus untuk melarutkan nikotin dan mengambil flavonoid. Hasil ekstraksi konsentrasi 320 µg/mL, 160 µg/mL, dan 80 µg/mL diuji aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. mutans*, *P. gingivalis*, dan jamur *C. albicans* dengan metode difusi cakram dan diinkubasi selama 24 dan 48 jam. **Hasil:** Pada inkubasi 24 jam, ekstrak flavonoid yang memiliki zona hambat terbaik terhadap ketiga mikroba ditunjukkan konsentrasi 80 µg/mL, dengan rerata diameter < 9mm pada *S. mutan* (bakteri gram positif), rerata diameter > 16mm pada *P. gingivalis* (bakteri gram negatif), dan rerata diameter < 9mm pada jamur *C. albicans*. **Kesimpulan:** Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi memiliki daya hambat lemah terhadap bakteri *S. mutans*, kuat terhadap *P. gingivalis*, serta lemah terhadap jamur *C. albicans*.

Kata kunci: *Candida albicans*, daun tembakau Kasturi, ekstrak flavonoid, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*.

Pendahuluan

Penyakit gigi dan mulut masih menjadi permasalahan kesehatan yang cukup besar di

Indonesia. Berdasarkan RISKESDAS tahun 2013 terdapat 25,9% penduduk Indonesia mengalami penyakit gigi dan mulut. Penyakit gigi dan mulut tersebut sebagian besar diakibatkan oleh infeksi

mikroba. Mikroba rongga mulut yang paling banyak terlibat dalam terjadinya berbagai penyakit rongga mulut diantaranya adalah bakteri *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) dan jamur *Candida albicans* (*C. albicans*) [1]. Salah satu upaya yang digunakan untuk mengurangi mikroba yang merugikan dalam rongga mulut adalah dengan obat kimia. Obat kimia yang banyak direkomendasikan untuk antibakteri dan antijamur diantaranya adalah Ketokonazole untuk jamur *C. albicans*, Tetrasiklin untuk bakteri *S. mutans*, dan Metronidazole untuk bakteri *P. gingivalis*. Dampak negatif yang banyak ditimbulkan oleh obat kimia menyebabkan masyarakat banyak beralih ke bahan alam. Hal ini dikarenakan pemanfaatan bahan alam yang digunakan sebagai obat jarang menimbulkan efek samping yang merugikan dibandingkan dengan obat yang terbuat dari bahan sintesis [2,3].

Penelitian tentang bahan alam yang banyak dilakukan adalah tentang daun tembakau (*Nicotiana tabacum L*). Tembakau jenis Kasturi merupakan jenis tembakau yang banyak dibudidayakan di daerah Jember dan Bondowoso (Jawa Timur) [4]. Pemanfaatan daun tembakau yang selama ini dilakukan oleh masyarakat adalah sebagai bahan baku rokok dan cerutu untuk daun yang dinilai baik kualitasnya, sedangkan daun tembakau limbah atau kusiran memiliki nilai jual yang amat rendah. Daun tembakau mengandung bahan aktif yang bermanfaat sebagai antibakteri dan antijamur [5,6,7]. Penelitian yang dilakukan oleh Putri (2015) menunjukkan ekstrak kasar daun tembakau Kasturi memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *S. mutans* dan *P. gingivalis* dengan konsentrasi 80%, serta pada jamur *C. albicans* dengan konsentrasi 100% [7].

Salah satu bahan aktif yang terkandung dalam tembakau yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan antijamur adalah flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari fenol yang mampu mendenaturasi protein dan berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur [5,6]. Namun, daun tembakau memiliki kandungan nikotin, yaitu berkisar 4 % dan pada tanaman tembakau jenis tertentu yang baik kadar nikotin di daunnya dapat mencapai 8 % [8]. Dosis fatal pada manusia dewasa diperkirakan sekitar 60 mg serta merupakan racun yang amat berbahaya dan menyamai sianida dalam kecepatan kerjanya [9]. Sesuai latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh ekstrak flavonoid rendah nikotin dengan memanfaatkan limbah daun tembakau Kasturi terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*, *P. gingivalis* dan jamur *C. albicans*.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan bulan April-Mei 2016, yang telah memperoleh perizinan dan persetujuan layak etik dari Unit Etika dan Advokasi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gajah Mada. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Jember, Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang, Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pelaksanaan penelitian ini berlangsung dalam beberapa tahap, yaitu:

1. Tahap Ekstraksi Limbah Flavonoid Rendah Nikotin

Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau diambil menggunakan metode ekstraksi hidrolisis dan reflus yang dimodifikasi. Limbah daun tembakau segar dicuci dan dikering anginkan selama 3 hari pada suhu kamar dan dioven pada suhu 50°C selama 16 jam. Daun tembakau Kasturi kering dihaluskan menggunakan blender. Daun tembakau Kasturi bubuk 100 gr dilarutkan dalam 500 ml HCl 1M dan direflus selama 2 jam pada suhu 80°C. Hasil reflus disaring menggunakan *vacuum filter* dan slurry hasil reflus ditambahkan dengan HCl 500 ml dan dilakukan pengadukan. Hasil disaring kembali menggunakan *vacuum filter* dan diambil slurrynya, lalu dicuci dengan HCl 250 ml. Slurry ditambahkan 500 ml etanol 80% dan dilakukan reflus selama 1 jam dengan suhu 80°C. Hasil reflus kemudian disaring menggunakan *vacuum filter* dan dicuci dengan etanol 80% (200 ml). Cairan kemudian didiamkan selama 8 jam. Lapisan atas diekstrak dengan pelarut petroleum eter 50 ml, lapisan atas hasil ekstrak dibuang dan diulang sebanyak 3 kali. Hasil ekstraksi dikeringkan sampai kira-kira 10 ml, kemudian ditambahkan acetonitrile 20 ml. Sentrifugasi dilakukan selama 10 menit pada 400 rpm. Lapisan atas diambil dan dikeringkan pada suhu 40°C selama 4-5 hari. Ekstrak diuji menggunakan alat LC-MS/MS.

2. Tahap Pengenceran Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi

Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida (DMSO) 0,25% hingga didapat konsentrasi 320 µg/mL, 160 µg/mL, dan 80 µg/mL. Kontrol negatif adalah DMSO 0,25%, sedangkan kontrol positif menggunakan Metronidazol konsentrasi 30 µg/mL untuk bakteri *P. gingivalis*, Tetrasiklin dengan

konsentrasi 30 µg/mL untuk bakteri *S. mutans*, dan Ketokonazol 0,5 µg/mL untuk jamur *C. albicans*.

3. Tahap Pembuatan Media Kultur

Penelitian ini menggunakan media kultur TSA yang ditambahkan dengan hemin, vitamin K, dan 5% sheep blood untuk pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*. Media kultur BHIA untuk media pertumbuhan bakteri *S. mutans* dibuat dengan mencampur 5,2 gram bubuk BHIA dan 110 mL aquades kemudian disterilkan dengan autoclave 121° C selama 15 menit dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 50°C. Selanjutnya dituangkan ke dalam 4 petridish dan dimasukkan ke lemari pendingin. Media kultur SDA untuk media pertumbuhan jamur *C. albicans* dibuat dengan cara mencampur 6,82 gram bubuk SDA dan 136,5 ml aquades kemudian disterilkan dengan autoclave 121° C selama 15 menit dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 50°C. Selanjutnya dituangkan ke dalam 4 petridish dan dimasukkan ke lemari pendingin.

4. Tahap Pembuatan Suspensi dan Inokulasi Bakteri dan Jamur

Bakteri *S. mutans* yang digunakan dalam penelitian adalah ATCC 25175. Suspensi dibuat dengan mengambil 1 ose bakteri *S. mutans* dari sediaan biakan serta dilarutkan dalam 0,5 brain heart infusion broth (BHIB) cair pada tabung reaksi. Setelah itu, suspensi tersebut dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37° C. Setelah itu, suspensi dilarutkan kembali dengan media BHIB sampai mencapai 0,5 Mc Farland atau sebanding dengan jumlah bakteri 1,5x10⁸ CFU/mL.

Bakteri *P. gingivalis* yang digunakan dalam penelitian ini adalah ATCC 33277 (ATCC US) dikultur dalam media TSA dengan 5% sheep blood, dan diinkubasikan dengan suhu 37°C dengan 5% CO₂ selama 2-3 hari sebelum pembuatan suspensi sebagai prosedur penyingkapan. Suspensi kemudian dibuat dengan mengambil 1 ose bakteri *P. gingivalis* dari sediaan biakan dan dilarutkan dalam 1cc larutan saline/PZ pada tabung reaksi hingga mencapai 0,5 Mc farland atau sebanding dengan jumlah bakteri 1,5x10⁸ CFU/mL dihomogenkan menggunakan thermolyne, dan harus digunakan dalam 30 menit.

Jamur *C. albicans* yang digunakan dalam penelitian ini adalah ATCC 10231. Suspensi dibuat dengan mengambil 1 ose jamur *C. albicans* dan dimasukkan pada media SDA dengan volume 5 mL, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada 37° C. Setelah dikeluarkan dari inkubator, suspensi *C. albicans* disesuaikan dengan kekeruhan menurut

larutan standar Mc Farland 1 atau sebanding dengan jumlah jamur 3x10⁸ CFU/mL.

Inokulasi bakteri dan jamur dilakukan menggunakan teknik spread plate pada media kultur. Suspensi inokulum bakteri *S. mutans* dan *P. gingivalis* serta jamur *C. albicans* sebanyak 100 µL diteteskan pada masing-masing media kultur. Suspensi diratakan di atas permukaan media kultur menggunakan swab steril.

5. Tahap Uji Daya Hambat Antibakteri dan Antijamur

Kertas cakram steril diameter 6mm ditetesi dengan ekstrak flavonoid limbah daun tembakau Kasturi konsentrasi 320 µg/ml, 160 µg/ml, dan 80 µg/ml sebanyak 20 µL menggunakan mikropipet. Sebagai kontrol negatif kertas cakram steril diameter 6mm ditetesi dengan DMSO 0,25% sebanyak 20 µL, dan sebagai kontrol positif kertas cakram ditetesi Metronidazole konsentrasi 30 µg/ml untuk bakteri *P. gingivalis*, Tetrasiklin konsentrasi 30 µg/ml untuk bakteri *S. mutans*, dan Ketokonazole konsentrasi 0,5 µg/ml untuk jamur *C. albicans*, dengan masing-masing sebanyak 20 µL menggunakan mikropipet. Cakram didiamkan selama satu menit sampai cairan menyerap dan kering. Kertas cakram ditempelkan di atas masing-masing permukaan media kultur yang telah diinokulasi dengan biakan bakteri dan jamur menggunakan pinset steril dan ditekan perlahan untuk memastikan bahwa kertas cakram benar-benar menempel pada media kultur. Masing-masing sampel dibuat tiga kali ulangan. Media kultur dibalik dan dilakukan inkubasi selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 37° C dalam kondisi anaerobik.

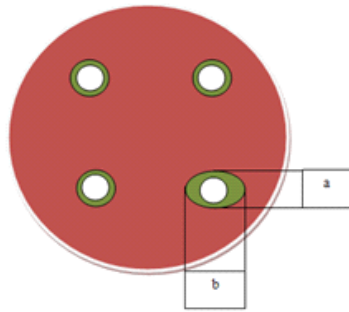
6. Tahap Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong digital sebanyak 3 kali oleh 3 orang pengamat yang berbeda dan diambil rata-rata. Pengukuran dilakukan setelah inkubasi bakteri selama 24 dan 48 jam. Apabila zona hambat berbentuk lingkaran maka pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter dari zona hambat. Apabila zona hambat berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter zona hambat yang panjang (misal a mm) dan diameter zona hambat yang pendek (misal b mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua, sehingga diameter zona hambatnya = $\frac{a+b}{2}$ [10]. Hasil pengukuran

dikelompokkan menurut klasifikasi Rauha (2000), yaitu :

a. Tidak memiliki aktivitas antimikroba apabila pertambahan diameternya < 1mm,

- b. Rendah jika pertambahan diameternya 1–3 mm,
- c. Sedang apabila pertambahan diameternya 3–4 mm,
- d. Baik apabila pertambahan diameternya 4–10 mm, dan
- e. Kuat apabila pertambahan diameternya > 10mm [11].

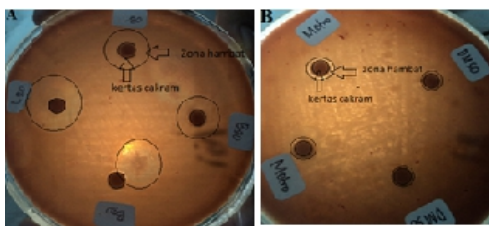


Gambar 1.

Pengukuran zona hambat bakteri yang berbentuk lonjong dan desain peletakan disc, a: diameter terpendek, b: diameter terpanjang, warna putih menunjukkan kertas cakram ukuran 6mm, warna hijau menunjukkan zona hambat, warna merah menunjukkan media agar.

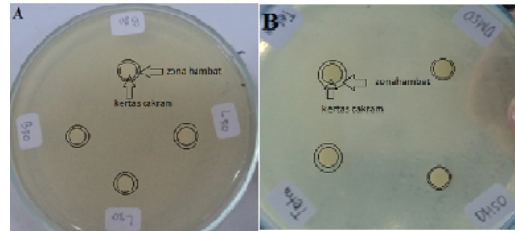
Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini adalah ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi inkubasi 24 jam dengan konsentrasi 80 µg/mL memiliki zona hambat terbesar pada pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*, *S. mutans*, dan jamur *C. albicans* jika dibandingkan dengan ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi konsentrasi 320 µg/mL dan 160 µg/mL. Hasil uji antibakteri inkubasi 24 jam ditampilkan pada Gambar 2-4 dan Tabel 1. Data yang diperoleh dari hasil inkubasi 48 jam menunjukkan zona hambat sudah ditumbuhi mikroba, sehingga dapat dikatakan bahwa pada inkubasi 48 jam tidak terdapat pengaruh ekstrak flavonoid limbah daun tembakau terhadap bakteri *P. gingivalis*, *S. mutans*, dan jamur *C. albicans*.

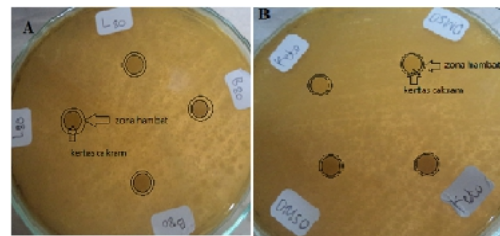


Gambar 2. Hasil pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada inkubasi 24 jam yang

diberi perlakuan ekstrak konsentrasi 80 µg/mL (A), Metronidazol dan DMSO (B).



Gambar 3. Hasil pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada inkubasi 24 jam yang diberi perlakuan ekstrak konsentrasi 80 µg/mL (A), Tetrasiklin dan DMSO (B).



Gambar 4. Hasil pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada inkubasi 24 jam yang diberi perlakuan ekstrak konsentrasi 80 µg/mL (A), Ketokonazole dan DMSO (B).

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan *S. mutans*, *P. gingivalis* dan *C. albicans* inkubasi 24 jam

Kelompok	N	Diameter Zona Hambat (mm)		
		<i>S. mutans</i> ($\bar{x} \pm SD$)	<i>P. gin- givalis</i> ($\bar{x} \pm SD$)	<i>C. albic- ans</i> ($\bar{x} \pm SD$)
K320 µg/mL	3	7,20±0,12	8,41±0,28	6,90±0,03
K160 µg/mL	3	6,81±0,05	11,40±0,08	7,37±0,12
K80 µg/mL	3	7,25±0,03	17,71±4,40	7,66±0,17
DMSO	3	6,94±0,18	8,11±1,46	7,14±0,29
Tetra	3	8,53±0,05	-	-
Metro	3	-	9,87±1,53	-
Keto	3	-	-	7,11±0,14

Ket :

n : jumlah sampel

($\bar{x} \pm SD$) : rata-rata ± standar deviasi

Data yang diperoleh dilakukan analisis menggunakan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov* dan menunjukkan bahwa data zona hambat ekstrak flavonoid limbah daun tembakau Kasturi terhadap bakteri *P. gingivalis*, *S. mutans*, dan jamur *C. albicans* inkubasi 24 jam berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai $p > 0,05$ pada bakteri *P. gingivalis*, *S. mutans*, dan jamur *C. albicans*, sehingga data dikatakan homogen. Uji *Analysis Of Variance* (ANOVA) menunjukkan nilai yang signifikan pada bakteri *P. gingivalis*, *S. mutans*, dan jamur *C. albicans*, sehingga dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan pada setiap kelompok.

Hasil uji LSD dalam pengukuran diameter zona hambat bakteri *P. gingivalis* menunjukkan terdapat beberapa perbedaan yang bermakna antara konsentrasi 80 µg/mL dengan konsentrasi 320 µg/mL, 160 µg/mL, DMSO, dan Metronidazole. Pada bakteri *S. mutans*, kelompok konsentrasi 320 µg/mL, 160 µg/mL, 80 µg/mL dan DMSO memiliki perbedaan bermakna terhadap Tetrasiklin. Pada bakteri *S. mutans*, kelompok DMSO terhadap kelompok konsentrasi 320 µg/mL dan 80 µg/mL, serta konsentrasi 160 µg/mL terhadap konsentrasi 320 µg/mL dan 80 µg/mL juga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Data hasil uji LSD jamur *C. albicans* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok konsentrasi 320 µg/mL terhadap konsentrasi 160 µg/mL dan 80 µg/mL.

Pembahasan

Pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* dan *S. mutans* jamur *C. albicans* menunjukkan bahwa pada masing-masing kelompok perlakuan mengalami penurunan diameter zona hambat pada hari ke-2 (48 jam). Menurut Havsteen (2002) semakin lama waktu kontak maka akan terjadi penurunan metabolisme flavonoid, sehingga terjadi penurunan aktivitas antibakteri [12]. Dapat juga diasumsikan bahwa, masa inkubasi yang semakin lama maka semakin besar kemungkinan mikroba untuk berkembang biak seiring dengan berkurangnya efektivitas suatu zat atau obat [13].

Pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* inkubasi 24 jam menunjukkan berbagai variasi diameter zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan (Tabel 1). Menurut klasifikasi Rauha, dkk. (2000), kelompok kontrol negatif DMSO 0,25% dan kelompok ekstrak konsentrasi 320 µg/ml memiliki diameter zona hambat yang rendah (pertambahan diameter 1–3 mm). Kelompok kontrol positif Metronidazol memiliki daya hambat yang masuk dalam kategori sedang (pertambahan diameter 3 – 4 mm), sedangkan diameter zona hambat yang dimiliki

oleh ekstrak konsentrasi 160 µg/ml masuk dalam kategori baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri (pertambahan diameter 4 – 10 mm). Rata-rata diameter zona hambat terbesar ditunjukkan oleh ekstrak konsentrasi 80 µg/ml, yang digolongkan dalam antibakteri yang kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* (pertambahan diameter > 10 mm).

Hasil penelitian menunjukkan, ekstrak flavonoid limbah daun tembakau rendah nikotin memiliki daya antibakteri yang kuat terhadap bakteri *P. gingivalis* (bakteri gram negatif). Flavonoid diasumsikan bekerja terhadap bakteri gram negatif dengan merusak membran sitoplasma, menghambat sintesis dinding sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat metabolisme energi. Pada bakteri gram negatif, flavonoid merusak membran sel dengan meningkatkan permeabilitas membran dalam, menghilangkan potensial membran sel bakteri [14,15] dan menyebabkan kebocoran membran sitoplasma [16]. Flavonoid juga mengganggu fungsi proton, yang diketahui gradien elektron kimianya dalam membran sel penting bagi bakteri dalam mempertahankan kapasitasnya dalam sintesis ATP, membran transpor, dan motilitas [15]. Cara kerja flavonoid dalam menghambat sintesis dinding sel, yaitu dengan menghambat D-alanine-D-alanine ligase [17] yang merupakan peptidoglikan penyusun dinding sel pada bakteri gram negatif [18]. Sintesis asam nukleat bakteri akan dihambat oleh flavonoid dengan menghambat sintesis protein pada pembentukan DNA dan RNA bakteri [19]. Penghambatan metabolisme energi dilakukan oleh flavonoid dengan menghambat sintesis ATP [20]. Aksi antibakteri flavonoid terhadap bakteri *P. gingivalis* ini berdasarkan hasil penelitian jauh lebih baik dibandingkan dengan Metronidazol. Metronidazol bekerja dengan masuk ke dalam sel bakteri, mereduksi nitro grup, mereduksi produknya dengan efek sitotoksiknya dan mengeluarkan produk akhir yang dapat menginaktivasi bakteri [21].

Terdapat variasi diameter zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan pada pertumbuhan bakteri *S. mutans* (Tabel 1). Menurut klasifikasi Rauha, dkk. (2000), pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada inkubasi 24 jam menunjukkan pada kelompok kontrol negatif DMSO 0,25% dan kelompok ekstrak konsentrasi 160 µg/ml tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. mutans* (pertambahan diameter <1 mm). Pada kelompok kontrol positif Tetrasiklin, kelompok ekstrak konsentrasi 320 µg/ml dan kelompok ekstrak konsentrasi 80 µg/ml memiliki rata-rata diameter zona hambat rendah (pertambahan diameter 1–3 mm). Diantara tiga kelompok konsentrasi ekstrak yang ada, daya hambat kelompok ekstrak konsentrasi

80 µg/ml adalah yang paling besar, akan tetapi diameter zona hambat kelompok ekstrak konsentrasi 80 µg/ml lebih kecil jika dibandingkan dengan daya hambat Tetrasiklin konsentrasi 30 µg/ml. Hal ini didukung dengan uji statistik yang telah dilakukan, yang menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok ekstrak konsentrasi 80 µg/ml dan kelompok tetrasiklin.

Hasil uji dari diameter zona hambat dan analisis data yang telah dilakukan, ekstrak flavonoid limbah daun tembakau rendah nikotin memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. mutans*, yang merupakan bakteri gram positif. Flavonoid limbah daun tembakau diasumsikan bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma serta merusaknya, dan menghambat metabolisme energi. Flavonoid akan menghambat fungsi membran sel dengan menyebabkan hilangnya potasium dan membahayakan membran sel sehingga mengakibatkan autolisis [22], serta memproduksi hidrogen peroksida [23]. Flavonoid juga menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat jalur topoisomerase atau hidrofolat reduktase [24,25]. Sedangkan dalam menghambat metabolisme energi, flavonoid bekerja dengan menghambat sistem respirasinya yaitu dengan menghambat konsumsi oksigen serta menghambat NADH-Cytochrome C reduktase [27,15]. Namun, aksi antibakteri Tetrasiklin lebih baik dari flavonoid. Tetrasiklin bekerja dengan menembus membran sel dan menghambat sintesis protein pada ribosomnya [28,9]. Hasil penelitian menunjukkan diameter zona hambat Tetrasiklin lebih besar dari zona hambat ekstrak flavonoid limbah daun tembakau.

Pertumbuhan inkubasi 24 jam jamur *C. albicans* memiliki berbagai variasi diameter zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan (Tabel 1). Menurut klasifikasi Rauha, dkk. (2000), kelompok ekstrak konsentrasi 320 µg/ml tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* (pertambahan diameter < 1 mm), sedangkan kelompok ekstrak konsentrasi 160 µg/ml dan 80 µg/ml, serta kelompok kontrol DMSO dan Ketokonazol memiliki daya hambat rendah (pertambahan diameter 1 – 3 mm).

Pada jamur *C. albicans*, flavonoid limbah daun tembakau rendah nikotin diasumsikan bekerja dengan menghambat pembentukan spora jamur patogen. Menurut Obongoya dkk. (2010) Flavonoid memiliki fungsi dalam merusak dinding sel jamur [29]. Flavonoid dapat berikatan dengan dinding sel melalui sebuah kompleks protein-fenol, yang melibatkan adanya ikatan hidrogen antara protein dan fenol. Kompleks ini nantinya akan dapat menyebabkan kerusakan (denaturasi) ikatan hidrogen

dalam protein pada dinding sel jamur. Selanjutnya, kerusakan inilah yang membuat matriks intraseluler jamur keluar. Keluarnya matriks ini akan menyebabkan kematian sel jamur [15]. Aksi antijamur dari flavonoid diasumsikan lebih baik dibandingkan dengan ketokonazol yang bekerja dengan menghambat enzim sitokrom P450 jamur sehingga sintesa ergosterol jamur terganggu dan kerusakan membran sel terjadi [9].

Pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan *P. gingivalis* serta jamur *C. albicans* inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa kelompok ekstrak flavonoid dengan konsentrasi 80 µg/ml memiliki diameter zona hambat yang lebih besar jika dibandingkan dengan konsentrasi 160 µg/ml dan 320 µg/ml. Hal ini disebabkan karena diameter zona hambat yang terjadi sangat dipengaruhi beberapa faktor antara lain toksisitas bahan uji, kemampuan difusi bahan uji terhadap media, dan interaksi antar komponen medium [30,3]. Kemampuan difusi bahan uji dan konsentrasi dapat mempengaruhi besarnya zona hambat dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah kelarutan, yang berakibat menurunnya kemampuan daya difusi zat ke media yang digunakan [31]. Semakin rendah konsentrasi maka semakin tinggi kelarutannya, sehingga kemampuan serap media akan semakin tinggi. Suresh (2015) menjelaskan toksisitas bahan uji yang berbeda juga berpengaruh terhadap perbedaan hasil pengukuran diameter zona hambat, dikarenakan kandungan yang berbeda pada tiap bahan dan perbedaan potensi zat dalam menghambat pertumbuhan jenis bakteri tertentu [32]. Interaksi antara komponen dan medium pada bakteri juga berpengaruh terhadap besar kecilnya zona hambat yang terbentuk, karena saat berdifusi terhadap medium terjadi kontak, sehingga mengakibatkan hilangnya komponen tertentu pada zat yang mengakibatkan berkurangnya kemampuan antimikroba bahan tersebut [33].

Kesimpulan dan Saran

Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.) memiliki daya hambat yang lemah terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*, serta memiliki daya hambat yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri *P.gingivalis*.

Saran yang dapat diajukan, yaitu perlu dilakukan penelitian uji toksisitas ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.) terhadap sel-sel rongga mulut, sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar obat kumur, serta penelitian lebih lanjut mengenai

aktivitas antimikroba paling optimum pada fraksi ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.).

Daftar Pustaka

- [1] Lamont, R. J., dan Jenkinson, H.S. *Oral Microbiology at A Glance*. Singapore: Willey-Blackwell p:30-39. 2010.
- [2] Wiryowidagdo, S. *Perkembangan dan Masa Depan Mikrobiologi*. Kursus Singkat Pengontrolan Kualitas Bahan Pangan Secara Mikrobiologi. Ujung Pandang : Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin h. 1-10. 1996.
- [3] Sabir, Ardo. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona sp* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Maj. Ked. Gigi (Dent. J.)* Vol 38. No 3 Juli-September 2005, p:135-141
- [4] Susilowati, E. Y. Identifikasi Nikotin dari Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Kering dan Uji Efektifitas Ekstrak Daun Tembakau sebagai Insektisida Penggerak Batang Padi (*Scirpophaga Innonata*). 2006. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- [5] Taiga, A., dan Friday, E. Variations in Phytochemical Properties of Selected Fungicidal Aqueous Extracts of Some Plant Leaves in Kogi State, Nigeria. *Amn-Eur J of Sustainable Agriculture*, 3 (3) 2009. p: 407-409.
- [6] Bakht, J., Azra., dan Shafi, M. *Antimicrobial Activity of Nicotiana Tabacum Using Different Solvents Extracts*. Pakistan: Khyber Pukhtum Khwa Agricultural University. 2012.
- [7] Putri, R. H., Daya hambat Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabaccum*) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Skripsi. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. 2015.
- [8] Gloria." Rokok dan Bahaya Merokok",2008. diakses dari www.Gloria.com pada tanggal 23Oktober 2015.
- [9] Gunawan, S. G., *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. h : 117-119. 2007.
- [10] Majidah D., Fatmawati D.W.A., dan Gunadi, A. Daya Anti Bakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. 2014.
- [11] Rauhaa Jussi-Pekka, Remes, Susanna, Heinonen, Marina, Hopia Anu, Ka`hko`nen Marja, Kujala Tytti, Pihlaja Kalevi, Vuorela Heikki, Vuorela Pia. Antimicrobial Effects Of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoid And Other Phenolic Compounds. *Int J Food Microbiol* 56 (2000), p: 3–12.
- [12] Havsteen, B. H. The Biochemistry and Medical Significance Of The Flavonoids, *Pharmacol Ther*: 29 2002: 67-202.
- [13] Choiroh, N. Perbedaan Rebusan Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) dengan Sodium Hipoklorit Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridians*. Jember :Universitas Jember. 2006.
- [14] Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. Antimicrobial Action Of Propolis And Some Of Its Components: The Effects On Growth, Membrane Potential And Motility Of Bacteria. *Microbiol Res*;152: 1997. 239–46.
- [15] Cushnie, T.P., dan Lamb, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. *Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 2005.p: 343–345.
- [16] Tamba Y, Ohba S, Kubota M, Yoshioka H, Yoshioka H, Yamazaki M. Single GUV Method Reveals Interaction Of Tea Catechin (-)-epigallocatechin gallate With Lipid Membranes. *Biophys J*;92. 2007. p:3178–94.
- [17] Wu D, Kong Y, Han C, Chen J, Hu L, Jiang H, et al. D-Alanine:D-Alanine Ligase As A New Target For The Flavonoids Quercetin And Apigenin. *Int J Antimicrob Agents*;32 2008. p:421–6.
- [18] Scheffers, Dirk-Jan dan Pinho, Mariana G. Bacterial Cell Wall Synthesis: New Insights from Localization Studies. *Microbiol And Mol Biol Rev.*, Dec. 2005.P. 585–607.
- [19] Ulanowska K, Tkaczyk A, Konopa G, W Egrzyn G. Differential Antibacterial Activity Of Genistein Arising From Global Inhibition Of DNA, RNA And Protein Synthesis In Some Bacterial Strains. *Arch Microbiol*;184 2006.p:271–8.
- [20] Chinnam, N., Dadi,P. K., Sobri, S. A., Ahmad, M., Kabir, M. A., Ahmad, Z. Dietary Bioflavonoids Inhibit Escherichia Coli ATP Synthase In A Differential Manner, *Int J Bio Macromol*: 46 2010. p:478-86.
- [21] Soares, Geisla Mary Silva , Figueiredo, Luciene Cristina, Faveri, Marcelo, Cortelli, Sheila Cavalca, Duarte, Poliana Mendes , Feres, Magda. Mechanisms Of Action Of Systemic Antibiotics Used In Periodontal Treatment And Mechanisms Of Bacterial Resistance To These Drugs. *J Appl Oral Sci*;20(3) 2012. p:295-309.
- [22] Cushnie TPT, Lamb AJ. Detection Of Galangin-Induced Cytoplasmic Membrane Damage In Staphylococcus Aureus By Measuring

- Potassium Loss. *J Ethnopharmacol* 101, 2005. p:243–8.
- [23] Arakawa, H., Maeda, M., Akabo, S., Shimamura, T. Role Of Hidrogen Peroxide In Bacterial Action Of Catechin. *Bio Pharm Bull*: 27, 2004. p:277-81.
- [24] Gradisar, H., Pristovsek, P., Plaper, A., Jeralar, R. Greentea Catechins Inhibit Bacterial DNA Gyrase by Interaction With Its ATP Binding Site. *J Med Chem*: 50, 2007. p: 264-71.
- [25] Wang Q, Wang H, Xie M. Antibacterial Mechanism Of Soybean Isoflavone On *Staphylococcus aureus*. *Arch Microbiol*;192, 2010. p:893–8.
- [26] Haraguchi H, Tanimoto K, Tamura Y, Mizutani K, Kinoshita T. Mode of Antibacterial Action of Retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*;48, 1998. p:125–9.
- [27] Chopra, Ian, Roberts, Marilyn. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, June 2001, p. 232–260.
- [28] Obongoya, B.O., Wagai, S.O., dan Odhiambo, G. Phytotoxic Effect of Selected Crude Plant Extracts on Soil-Borne Fungi of Common Bean. *African Crop Sci. Journal*: 18 (1), 2010. p:15–22.
- [29] Mickel, Andre' K. DDS, MSD, Priya Sharma, BDS, and Sami Chogle, BDS, MSD. 2003. Effectiveness of Stannous Fluoride and Calcium Hydroxide Against *Enterococcus faecalis*. *JOE* vol. 29, no. 4:259-260.
- [30] Candrasari, Anika, Romas, M. Amin, Hasbi, Masna, Astuti, Ovi Rizky. 2012. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 11229 DAN *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In Vitro. *Biomedika*, Volume 4 Nomor 1. Hal. 9-16.
- [31] Bonev, Boyan, Hooper, James, Parisot, Judicael. 2008. Principles Of Assessing Bacterial Susceptibility To Antibiotics Using The Agar Diffusion Method. *JAC*. 61, 1295–1301.