



**DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN  
TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum*) TERHADAP  
PERTUMBUHAN MIKROBA RONGGA MULUT**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Riria Hendarto Putri**  
**NIM 111610101006**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN TEMBAKAU  
(*Nicotiana tabacum*) TERHADAP PERTUMBUHAN  
MIKROBA RONGGA MULUT**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh:  
**Riria Hendaro Putri**  
**NIM 111610101006**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## PERSEMBAHAN

Dengan setulus hati skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bangsa dan Negaraku yang kujunjung tinggi serta Almamaterku yang akan selalu kujaga nama baiknya.
2. Ayahku tercinta, **Ir. Juni Indarto** dan ibuku tercinta, **Mindrayati, S.P.** Terimakasih yang tak terhingga atas usaha, jerih payah, cinta, kasih sayang, dorongan semangat dan nasehat yang selalu diberikan demi keberhasilan, kesuksesan dan kebahagiaan saya. Ayah dan ibu selama ini selalu menjadi sumber inspirasi, motivator dan keteladanan bagi saya. Kerja keras, perjuangan dan segala pengorbanan ayah dan ibu membuat saya semangat menjalani hidup dan mewujudkan cita-cita. Berkat doa ibu dan ayah juga, saya bisa sampai seperti saat ini. Semoga saya bisa selalu memberikan yang terbaik dan tidak mengecewakan ayah dan ibu, serta apa yang selalu saya lakukan dan perjuangkan bisa membahagiakan dan membanggakan ibu dan ayah. Aamiin Ya Robb...
3. Adikku tercinta, **Adhelia Brilianty** dan **Raka Gamma Firmansyah**. Terima kasih telah menjadi sumber semangat dan motivasi untuk segera mewujudkan cita-cita.
4. Kakek dan nenekku serta keluarga besar di Malang dan Ponorogo.
5. Guru-guru sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi.
6. Sahabat-sahabatku yang selalu memberikan dukungan, semangat, bantuan dan motivasi.

**MOTTO**

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan). Kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya Kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.

(terjemahan Q.S. Al-Insyirah :6-8) \*)

Melihatlah ke atas untuk urusan akhiratmu dan melihatlah ke bawah untuk urusan duniamu maka hidup akan tentram.

(Anonim) \*\*)

Ilmu pengetahuan tanpa agama adalah pincang.

(Einstein) \*\*)

---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al Qur'an dan Terjemahannya Special for Women*. Jakarta: Yayasan Penyelenggara Penterjemah/Pentafsir Al-Qur'an.

\*\*) <http://amirulrosid.blogspot.com/2011/11/kumpulan-motto-hidup.html>

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Riria Hendarto Putri

NIM : 111610101006

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : “Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 April 2015

Yang menyatakan,

Riria Hendarto Putri

111610101006

**SKRIPSI**

**DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN TEMBAKAU  
(*Nicotiana tabacum*) TERHADAP PERTUMBUHAN  
MIKROBA RONGGA MULUT**

Oleh:

**Riria Hendarto Putri**

**111610101006**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Izzata Barid, M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Selasa, 14 April 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji

Ketua,

Anggota,

drg. Sri Lestari, M.Kes

NIP 196608191996012001

drg. Dwi Merry C.R., M.Kes

NIP 197712232008122002

Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes

NIP 197005091999032001

drg. Izzata Barid, M.Kes

NIP 196805171997022001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,

Universitas Jember,

drg. Hj. Herniyati, M. Kes

NIP. 195909061985032001

## RINGKASAN

**Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut:** Riria Hendarto Putri; 111610101006; 2015; 97 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Mikroba rongga mulut yang paling banyak terlibat dalam terjadinya penyakit-penyakit rongga mulut diantaranya adalah bakteri *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* dan jamur *Candida albicans*. Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram-positif penyebab awal terjadinya karies gigi. *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri Gram-negatif yang berpengaruh pada perkembangan penyakit periodontal. Jamur *Candida albicans* merupakan flora normal rongga mulut yang mengakibatkan *oral candidiasis* apabila pertumbuhannya berlebihan. Salah satu cara mencegah permasalahan di atas adalah dengan penggunaan obat kumur *chlorexidine gluconate*, namun penggunaannya dalam jangka panjang dapat menyebabkan beberapa efek samping sehingga perlu penelitian lebih lanjut untuk mencari bahan alternatif sebagai bahan dasar pembuatan obat kumur yang lebih aman.

Daun tembakau mengandung bahan aktif yang bermanfaat sebagai antibakteri dan antijamur (Bakht dkk., 2012; Taiga dan Friday, 2009). Bahan aktif tersebut antara lain golongan fenol berupa flavonoid, golongan alkaloid berupa nikotin, golongan saponin berupa steroid dan golongan minyak atsiri berupa terpenoid (Fathiazad, 2005; Susilowati, 2006; Rusli dkk., 2011). Alkaloid sebagai antibakteri bekerja dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga terjadi lisis, sedangkan flavonoid akan mendenaturasikan protein dan merusak permeabilitas dinding sel bakteri. Flavonoid sebagai antijamur bekerja dengan mengganggu permeabilitas membran sel jamur dan merubah komponen organik serta transport nutrisi yang akhirnya mengakibatkan efek toksik pada jamur.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design* yang bertujuan untuk

mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta terhadap jamur *Candida albicans*. Ekstrak etanol daun tembakau diambil menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% kemudian diencerkan dengan kontrol negatif berupa larutan dimetil sulfoksida (DMSO) 1% hingga menjadi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Kontrol positif menggunakan *chlrexidine gluconate* 0,2% dan semua kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Uji aktivitas antibakteri dan antijamur menggunakan metode difusi cakram (*disc-diffusion methode*). Setiap sampel dari masing-masing kelompok diteteskan satu persatu pada kertas cakram berdiameter 5 mm menggunakan mikropipet sebanyak 13  $\mu$  L dan ditunggu sampai ekstrak etanol daun tembakau terserap, kemudian diletakkan menggunakan pinset steril dan dipastikan benar-benar menempel pada media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* yang telah diinokulasi bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta pada media kultur *sabaroud dextrose agar* (SDA) yang telah diinokulasi jamur *Candida albicans*. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 37° C selama 24 dan 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat setiap 24 jam dan 48 jam menggunakan jangka sorong digital.

Daya antibakteri dan antijamur ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tembakau mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* pada hari ke-1, sedangkan pada hari ke-2 ekstrak etanol daun tembakau sudah tidak efektif lagi. Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah ekstrak etanol daun tembakau mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Ekstrak etanol daun tembakau dengan konsentrasi 80% adalah konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Ekstrak etanol daun tembakau dengan konsentrasi 100% adalah konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan jamur *Candida albicans*.

## PRAKATA

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut”. Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Rahardiyani Paarnaji, M.Kes, Sp. Prost selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. Dr. drg. Banun Kusumawardani selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan drg. Izzata Barid, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping (DPP) yang telah memberikan banyak waktu, perhatian, bimbingan, ilmu, nasehat, saran, masukan, motivasi, dukungan dan semangat dalam penyusunan skripsi ini;
4. drg. Sri Lestari, M.Kes selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Dwi Merry C.R., M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan banyak masukan, saran dan bimbingan demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Dr. drg. Achmad Gunadi, M.S., Ph.D, selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) atas bimbingan, semangat dan motivasi yang diberikan selama masa perkuliahan;
6. drg. Erna Sulistyani M.Kes dan drg. Happy Harmono, M.Kes atas doa, semangat, dukungan, nasehat dan motivasi yang diberikan;
7. Seluruh dosen dan staf pengajar serta karyawan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas ilmu pengetahuan, kerjasama dan bantuannya selama ini;

8. Kedua orang tuaku, Ayahanda tercinta Ir. Juni Indarto dan Ibunda tercinta Mindrayati, S.P. yang telah berjuang keras demi keberhasilan ananda, memberikan dukungan moril dan materil serta semangat dan motivasi ananda dalam menggapai cita-cita. Terimakasih atas kesabaran, pengertian, nasehat, dukungan dan doa yang tidak pernah putus;
9. Adikku tercinta Adhelia Brilianty dan Raka Gamma Firmansyah atas keceriaan, kesabaran, pengertian, doa, dukungan, bantuan, semangat dan motivasi yang selalu diberikan;
10. Nenek serta keluarga besar di Malang dan Ponorogo atas doa, bantuan, dukungan, semangat, nasehat dan motivasi yang selalu diberikan;
11. M. Miftahur Royan yang selama ini telah memberikan banyak perhatian, bantuan, doa, dukungan, semangat, nasehat dan motivasi;
12. Sahabat-sahabatku, Nuyu, Maya, Yurike, Amel, Neira, Pupun, Yulia, Yeyehn dan Tari. Terimakasih atas doa, dukungan, semangat, motivasi, kekuatan dan bantuan yang selalu diberikan;
13. Teman seperjuangan skripsiku, Vananda dan Ima. Terimakasih atas semangat dan kerjasamanya;
14. Mbak Laras, mbak Kumala, mbak Putri, mbak Alfi, mbak Idayu, mas Adi, mas Pandika dan mas Dede. Terimakasih atas dukungan, semangat, motivasi dan bantuan yang diberikan selama saya di FKG;
15. Ibu Ida Susilowati, nenek dan keluarga mahasiswa Ponorogo di Jember KPMP-BK, terimakasih atas doa, semangat dan bantuan yang telah banyak diberikan selama saya di Jember;
16. Dewi dan keluarga yang telah membantu dan memfasilitasi proses pengumpulan sampel daun tembakau;
17. Prof. Suwarso dan Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas) Malang yang telah membantu dalam proses identifikasi daun tembakau;
18. Bu Widi dan mbak Andra Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember yang telah banyak membantu dalam pembuatan ekstrak etanol daun tembakau;

19. Setyo Pinardi (Pak Pin) Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember yang telah banyak membantu dalam proses penelitian;
20. Teman-teman seperjuangan FKG UJ 2011 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya selama ini;
21. Serta seluruh pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini.

Pada kesempatan ini, penulis juga ingin menyampaikan bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, semua kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi bidang kedokteran gigi.

Jember, 14 April 2015

Penulis

**DAFTAR ISI**

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xviii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1 Tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i>).....</b>	<b>6</b>
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Tembakau .....	6
2.1.2 Morfologi Tembakau .....	6
2.1.3 Tembakau Kasturi.....	7
2.1.4 Ekstraksi Daun Tembakau .....	8

2.1.5 Kandungan Daun Tembakau .....	9
2.1.6 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau .....	10
2.1.7 Daya Antijamur Ekstrak Daun Tembakau .....	13
2.1.8 Manfaat Daun Tembakau di Bidang Kesehatan .....	14
<b>2.2 <i>Streptococcus mutans</i> .....</b>	<b>15</b>
2.2.1 Klasifikasi <i>Streptococcus mutans</i> .....	15
2.2.2 Morfologi <i>Streptococcus mutans</i> .....	16
<b>2.3 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....</b>	<b>17</b>
2.3.1 Klasifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	17
2.3.2 Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	18
<b>2.4 <i>Candida albicans</i> .....</b>	<b>19</b>
2.4.1 Klasifikasi <i>Candida albicans</i> .....	19
2.4.2 Morfologi <i>Candida albicans</i> .....	19
<b>2.5 Hipotesis .....</b>	<b>20</b>
<b>2.6 Kerangka Konseptual .....</b>	<b>21</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2 Tempat Penelitian .....</b>	<b>22</b>
<b>3.3 Waktu Penelitian .....</b>	<b>22</b>
<b>3.4 Variabel Penelitian .....</b>	<b>22</b>
<b>3.5 Definisi Operasional .....</b>	<b>23</b>
<b>3.6 Sampel Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>3.7 Kriteria Sampel .....</b>	<b>25</b>
<b>3.8 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>25</b>
<b>3.9 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>27</b>
3.9.1 Tahap Persiapan .....	27
3.9.2 Proses Ekstraksi Daun Tembakau Menggunakan Etanol dengan Metode Maserasi .....	27
3.9.3 Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Tembakau .....	28

3.9.4 Pembuatan Media Kultur .....	29
3.9.5 Pembuatan Suspensi Bakteri dan Jamur .....	29
3.9.6 Inokulasi Bakteri dan Jamur .....	31
3.9.7 Uji Daya Hambat Antibakteri dan Antijamur.....	32
3.9.8 Pengukuran Zona Hambat .....	33
3.9.9 Analisa Data.....	35
<b>3.10 Alur Penelitian .....</b>	<b>35</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
4.1 Hasil .....	36
4.2 Analisis Data.....	42
4.3 Pembahasan.....	45
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>52</b>
5.1 Kesimpulan .....	52
5.2 Saran .....	52
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>61</b>

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman Tembakau dan Klasifikasi Daun Tembakau Berdasarkan Letak Daun pada Batang .....	7
2.2 Tembakau Kasturi .....	8
2.3 Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	16
2.4 Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	18
2.5 Jamur <i>Candida albicans</i> .....	20
2.6 Kerangka Konsep Penelitian .....	21
3.1 Pengenceran DMSO 1% dan Ekstrak Etanol Daun Tembakau .....	29
3.2 Pembagian Media Kultur Menjadi Empat Bagian .....	31
3.3 Inokulasi Mikroba Menggunakan Metode <i>Spread Plate</i> .....	31
3.4 Uji Daya Hambat Antibakteri dan Antijamur Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	32
3.5 Inkubasi Media Kultur .....	33
3.6 Pengukuran Diameter Zona Hambat .....	33
3.7 Cara Pengukuran Diameter Zona Hambat .....	34
4.1 Hasil Pertumbuhan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> pada Hari ke-1 (24 jam) yang Diberi Perlakuan <i>Chlorhexidine Gluconate</i> 0,2% dan Ekstrak Etanol Daun Tembakau Konsentrasi 80% .....	37
4.2 Hasil Pertumbuhan Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada Hari ke-1 (24 jam) yang Diberi Perlakuan <i>Chlorhexidine Gluconate</i> 0,2% dan Ekstrak Etanol Daun Tembakau Konsentrasi 100% .....	38
4.3 Hasil Pertumbuhan jamur <i>Candida albicans</i> pada hari ke-1 (24 jam) yang diberi Perlakuan <i>Chlorhexidine Gluconate</i> 0,2% dan Ekstrak Etanol Daun Tembakau Konsentrasi 100% .....	39

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan Daun Tembakau Menurut Tso (1999) .....	9
2.2 Susunan Kimia Daun Tembakau Menurut Cahyono (1998).....	10
2.3 Kandungan Daun tembakau Menurut Podlejski dan Olejniczak (1983).....	10
4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> dan <i>Candida albicans</i> .....	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Foto Hasil Penelitian.....	61
B. Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> .....	67
C. Hasil Uji Homogenitas <i>Levene-Statistic</i> .....	69
D. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> .....	70
E. Hasil Uji <i>Maan Whitney</i> .....	71
F. Hasil Uji <i>One Way ANOVA</i> .....	82
G. Hasil Uji <i>LSD</i> .....	83
H. Data Hasil Penelitian.....	85
I. Alat dan Bahan Penelitian.....	88
J. Proses Ekstraksi Daun Tembakau Menggunakan Etanol 96% dengan Metode Maserasi.....	90
K. Pembuatan Kontrol Negatif DMSO 1%.....	91
L. Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	92
M. Surat Identifikasi Tanaman Tembakau.....	95
N. Surat Keterangan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tembakau.....	97

**DAFTAR SINGKATAN**



BHI	= <i>Brain Heart Infusion</i>
BHI-B	= <i>Brain Hearth Infusion Broth</i>
DMSO	= <i>Dimetyl Sulfoxida</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleid Acid</i>
GSCF	= <i>Growth Colony Stimulating Factor</i>
IL-1	= <i>Interleukin-1</i>
LIPI	= <i>Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia</i>
LSD	= <i>Least Significance Different</i>
PGE-2	= <i>Prostaglandin E2</i>
PR	= <i>Protein Related</i>
RNA	= <i>Ribonucleic Acid</i>
SD	= <i>Steam Distillation</i>
SDA	= <i>Sabouraud Dextrosa Agar</i>
SDE	= <i>Steam Distillation and Extraction</i>
TNF- $\alpha$	= <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TSA	= <i>Trypticase Soy Agar</i>
TYC	= <i>Tryptycase Yeast-extract Cystine</i>
VO	= <i>Voor Oogst</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan bahan alam yang berperan terhadap kesehatan manusia karena memiliki berbagai kandungan bermanfaat yang dapat digunakan sebagai obat (Chandrashekar, 2012; Yildirim dkk., 2000; Odugbemi, 2006). *World Health Organization* (WHO) memperkirakan 80% populasi dari Negara Asia masih menggunakan obat tradisional untuk memelihara kesehatannya (Chandrashekar, 2012). Obat tradisional salah satunya dapat terbuat dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) (Suresh dkk., 2008).

Daun tembakau secara umum hanya dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan rokok dan telah lama menjadi kontroversi karena dikenal dapat menyebabkan dampak negatif seperti gangguan pada jantung, terjadinya penyakit kanker paru-paru, sesak nafas, perubahan warna gigi menjadi lebih kuning, kerusakan jaringan, penurunan kemampuan indra pengecap, leukoplakia dan resiko kanker mulut (Asmino dan Soedoko, 1987; DerMarderosian, 2001). Disisi lain, daun tembakau juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku produk berbasis nonrokok yang berdampak positif bagi kesehatan (Witarto, 2008).

Dr. Arief Budi Witarto, M.Eng dari Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) menyatakan bahwa tembakau dapat menghasilkan protein anti kanker yang berguna bagi penderita kanker. Tembakau juga dapat menghasilkan protein *Growth Colony Stimulating Factor* (GSCF) yang dapat digunakan untuk menstimulasi produksi darah dan memperbanyak *stemcell* yang kemudian dikembangkan untuk memulihkan jaringan tubuh yang rusak, selain itu tembakau juga dapat menghasilkan produk farmasi berbentuk protein yang berguna sebagai bahan baku antibodi, obat dan juga anti virus, hal tersebut menunjukkan bahwa daun tembakau juga memiliki berbagai kandungan yang bermanfaat dalam bidang kesehatan (Witarto, 2008).

Daun tembakau diantaranya mengandung bahan aktif yang bermanfaat sebagai antibakteri dan antijamur (Bakht dkk., 2012; Taiga dan Friday, 2009). Bahan aktif tersebut antara lain golongan fenol berupa flavonoid, golongan alkaloid berupa nikotin, golongan saponin berupa steroid dan juga mengandung golongan minyak atsiri berupa terpenoid (Fathiazad, 2005; Susilowati, 2006; Rusli dkk., 2011).

Alkaloid mempunyai sifat antibakteri dengan bekerja merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel bakteri mengalami lisis dan terjadi kematian sel, sedangkan flavonoid bekerja dengan mendenaturasikan protein dan merusak permeabilitas sel bakteri, mikrosom serta lisosom sebagai hasil dari proses interaksi antara flavonoid dengan dinding bakteri (Pepeljnjak dkk., 1985). Flavonoid juga melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri (Mirzoeva dkk., 1997). Selain itu, flavonoid dapat berperan sebagai antijamur dengan bekerja mengganggu permeabilitas membran sel jamur dan merubah komponen organik serta transport nutrisi yang akhirnya mengakibatkan adanya efek toksik pada jamur (Jupriadi, 2011). Fungsi membran sel yang terganggu juga menyebabkan peningkatan permeabilitas sel hingga akhirnya jamur mati (Jawetz, 1986).

Kematian jenis mikroba yang tidak menguntungkan dapat mencegah terjadinya suatu penyakit seperti penyakit-penyakit pada rongga mulut. Mikroba rongga mulut yang paling banyak terlibat dalam terjadinya penyakit-penyakit rongga mulut diantaranya adalah bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* (Lamont dan Jenkinson, 2010). Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram-positif penyebab awal terjadinya karies gigi (Simon, 2007; Roeslan, 1992). Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri Gram-negatif yang berpengaruh terhadap perkembangan suatu penyakit periodontal (Noril dkk., 1997; Culter dkk, 1995). Jamur *Candida albicans* merupakan jamur flora normal rongga mulut yang dapat mengakibatkan terjadinya *oral candidiasis* apabila pertumbuhannya berlebihan (Silverman dkk., 2001).

Bahan antimikroba sintetis yang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram-positif, Gram-negatif serta antijamur adalah *chlorexidine gluconate* (Gupta, 2012). Penggunaan *clorhexidine gluconate* dalam jangka panjang dapat menyebabkan beberapa efek samping seperti gangguan pengecap, adanya sensasi rasa terbakar, perubahan warna pada gigi, restorasi, dan membran mukosa serta terjadinya peningkatan deposit kalkulus (Farah dkk., 2009). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian dalam usaha mencari bahan alternatif yang aman digunakan sebagai bahan antibakteri terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif serta antijamur.

Daun tembakau diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif yaitu *Staphylococcus aureus*, bakteri Gram-negatif yaitu *Erwinia carotovora* dan jamur (Bakht dkk., 2012; Taiga dan Friday, 2009). Hal tersebut dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan Taiga dan Friday (2009), yang menunjukkan bahwa ekstrak daun tembakau dengan konsentrasi 10% sampai 40% efektif menghambat pertumbuhan *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, dan *Rhizopus sp.* Efektifitas ini diakibatkan kandungan flavonoid dalam daun tembakau yang diketahui bersifat fungistatik dan fungisidal. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Duangsri dkk. (2012), menunjukkan bahwa ekstrak daun tembakau dengan konsentrasi 50%, 80% dan 100% efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Streptococcus aureus*.

Penelitian tentang daun tembakau sebagai antimikroba rongga mulut khususnya antibakteri dan antijamur terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin meneliti daya hambat antibakteri dan antijamur ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans*, sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai acuan bahan dasar pembuatan obat kumur antimikroba untuk pencegahan penyakit karies gigi dan penyakit periodontal.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang dapat diambil adalah

1. Apakah ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ?
2. Apakah ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*?
3. Apakah ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* ?

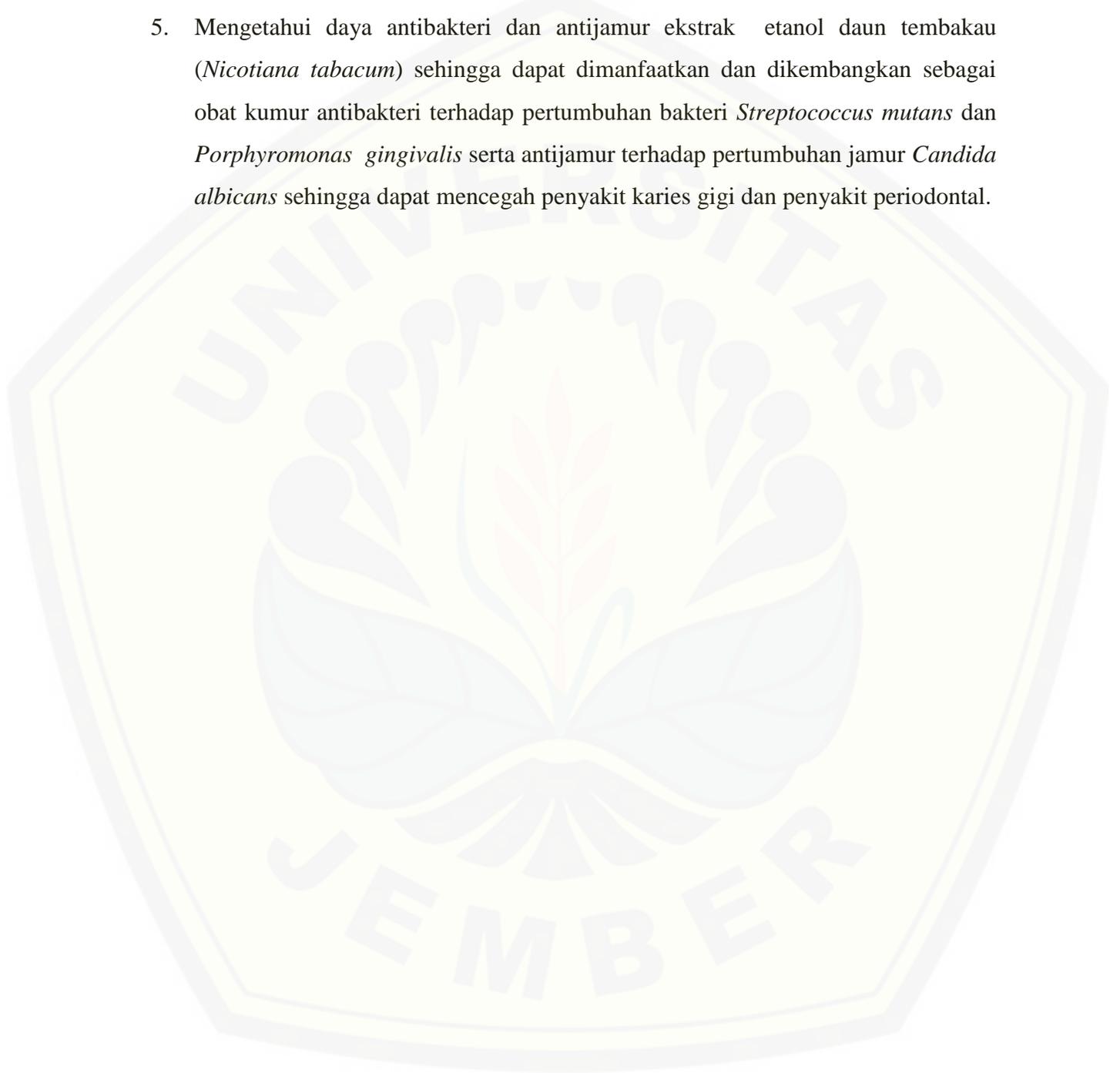
## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
2. Untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
3. Untuk mengetahui daya antijamur ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Menambah pengetahuan mengenai khasiat bahan alam sebagai obat.
2. Memberikan pengetahuan mengenai daya antibakteri ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
3. Memberikan pengetahuan mengenai daya antibakteri ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

4. Memberikan pengetahuan mengenai daya antijamur ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
5. Mengetahui daya antibakteri dan antijamur ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) sehingga dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai obat kumur antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta antijamur terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* sehingga dapat mencegah penyakit karies gigi dan penyakit periodontal.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tembakau (*Nicotiana tabacum*)

Tembakau merupakan tanaman perkebunan yang tidak termasuk dalam kelompok tanaman pangan. Secara umum tembakau dimanfaatkan bagian daunnya sebagai bahan utama dalam pembuatan rokok (Cahyono, 1998).

#### 2.1.1 Klasifikasi Tembakau

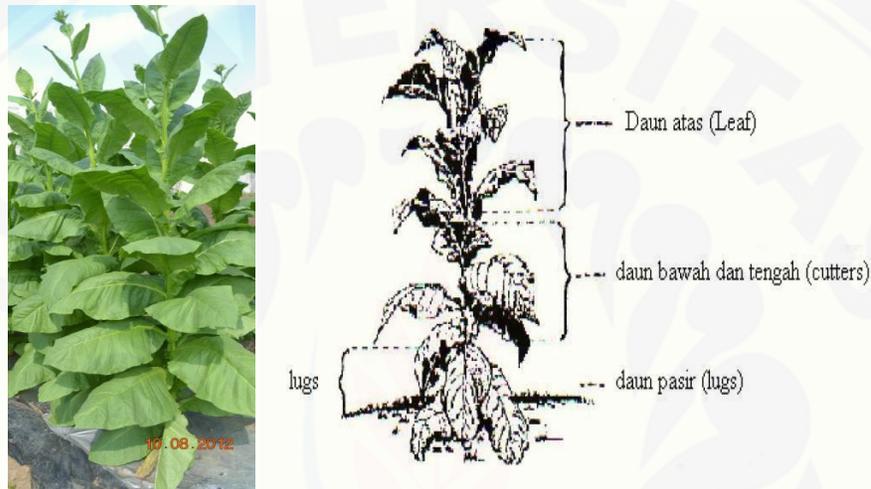
Menurut Goodspread (1954), klasifikasi tanaman tembakau adalah sebagai berikut :

Famili	: <i>Solanaceae</i>
Sub Famili	: <i>Nicotianae</i>
Genus	: <i>Nicotianae</i>
Spesies	: <i>Nicotiana tabacum</i>

#### 2.1.2 Morfologi Tembakau

Tembakau terdiri dari beberapa bagian yaitu akar, batang, daun, bunga dan buah. Daun tembakau berbentuk bulat lonjong, ujungnya meruncing, tulang daunnya menyirip dan bagian tepinya agak bergelombang serta memiliki permukaan yang licin. Daun tembakau memiliki tangkai yang melekat pada batang, kedudukan daunnya mendatar atau tegak. Ukuran dan ketebalan daun tergantung jenis varietas tembakau dan lingkungan tempat tumbuhnya. Jumlah daun dalam satu tanaman kurang lebih sekitar 18-32 helai dan tumbuh berselang-seling mengelilingi batang (Cahyono, 1998).

Daun tembakau dapat berperan sebagai tanaman obat yang dimanfaatkan sebagai antibakteri dan antijamur. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa daun tembakau bagian atas dan tengah mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid, sedangkan daun tembakau bagian bawah hanya mengandung alkaloid, flavonoid dan terpenoid (Rusli dkk., 2011).



Gambar 2.1 Tanaman tembakau dan klasifikasi daun tembakau berdasarkan letak daun pada batang (Sumber: <http://litbangjember.wordpress.com/2012/10/10/morfologi-tanaman-tembakau/>; Susilowati, 2006).

Daun tembakau secara umum diklasifikasikan berdasarkan letaknya pada batang, yang dimulai dari urutan bawah ke atas, yaitu: daun pasir (*zand blad/lugs*), kaki (*voet blad/cutters*), tengah (*midden blad/leaf*), dan atas (*top blad/tips*) (Susilowati, 2006).

### 2.1.3 Tembakau Kasturi

Tembakau Kasturi merupakan jenis tembakau yang diolah secara krosok (*leaf type*) atau lembaran-lembaran daun dan dibudidayakan pada musim kemarau atau

dikenal dengan istilah *voor oogst* (VO). Tembakau kasturi berdasarkan cara pengeringannya termasuk dalam tipe Burley karena proses pengeringannya menggunakan bantuan sinar matahari secara langsung (*sun cured*). Tanaman ini banyak dibudidayakan di daerah Jember dan Bondowoso (Jawa Timur) (Susilowati, 2006).



Gambar 2.2 Tembakau Kasturi Sumber: <http://kasturiradia.blogspot.com/>.

Jenis tembakau lain yang sering di tanam di Jember yaitu tembakau jenis *Na oogst* (Naus). Tembakau ini ditanam pada musim penghujan. Kandungan nikotin pada tembakau yang ditanam pada musim penghujan lebih rendah dibanding dengan tembakau yang ditanam pada musim kemarau (Sudaryono, 2004). Kandungan nikotin pada tembakau kasturi mencapai 3,21%, sedangkan pada jenis Naus maksimal hanya mencapai 1,75% (Sholeh dkk., 2000).

#### 2.1.4 Ekstraksi Daun Tembakau

Ekstraksi daun tembakau menghasilkan ekstrak daun tembakau berupa senyawa volatil dan semi volatil yang menentukan standar kualitas tembakau dengan kekhasan aromanya. Jenis senyawa pada ekstrak daun tembakau memiliki komposisi yang beragam pada setiap hasil ekstrak, tergantung karakteristik perlakuan pendahuluan dan bahan yang digunakan sebelumnya. Proses

fermentasi pada daun tembakau dapat mempengaruhi hasil ekstrak yang dihasilkan (Pang dkk., 2004).

Senyawa volatil dan semi volatil pada daun tembakau dapat diperoleh dengan metode ekstraksi pelarut (*solvent extraction*) dan distilasi (*distillation*) (Podlejski dan Olejniczak, 1983). Menurut Xin dkk. (2006), secara umum untuk menghasilkan komponen bioaktif dari daun tembakau pada metode ekstraksi pelarut digunakan pelarut etanol, sedangkan metode distilasi menggunakan pelarut air (Podlejski dan Olejniczak, 1983). Kombinasi antara kedua metode tersebut adalah *steam distillation and extraction* (SDE) yang merupakan metode terbaik dan paling umum digunakan. Efektivitas penggunaan SDE untuk ekstraksi daun tembakau dibandingkan dengan metode *steam distillation* (SD) dapat dilihat berdasarkan jumlah rendemen yang tinggi pada penggunaan metode SDE yaitu 445,48 mL/100 g, 228,42 mL/ 100 g dan 315,72 mL/100 g (Pang dkk., 2004).

#### 2.1.5 Kandungan Daun Tembakau

Daun tembakau mengandung bahan aktif yang bermanfaat sebagai antibakteri dan antijamur (Bakht dkk., 2012; Taiga dan Friday, 2009). Bahan aktif tersebut antara lain golongan fenol berupa flavonoid, golongan alkaloid berupa nikotin, golongan saponin berupa steroid dan juga mengandung golongan minyak atsiri berupa terpenoid (Fathiazad, 2005; Susilowati, 2006; Rusli dkk., 2011).

Tabel 2.1 Kandungan daun tembakau menurut Tso (1999)

Tipe	Posisi daun	Nikotin (%)
<i>Flue-cured</i>	Bawah	1,87
	Tengah	2,65
	Atas	3,26
Burley	Bawah	2,14
	Tengah	3,00
	Atas	3,65

Tabel 2.2 Susunan kimia daun tembakau menurut Cahyono (1998)

Uraian	Jumlah (%)
Abu	20
Gula	0,4-2,5
Fenol	0,0-0,5
Nitrat	1,0-2,0
Nikotin:	
a. Pada daun bawah	0,16-2,89
b. Pada daun tengah	0,3-3,75
c. Pada daun atas	0,5-4,0
Kandungan N total	2,18-3,58

Tabel 2.3 Kandungan daun tembakau menurut Podlejski dan Olejniczak (1983)

Komponen	Komposisi (% bk)
Total Nitrogen	2,20
Protein nitrogen (nitrogen)	1,58
Nikotin	0,67
Nitrogen dari asam $\alpha$ -amino	0,30
Air terlarut karbohidrat	25,9
Selulosa	12,3
Pektin	13,4
Polyentose	4,90
Minyak atsiri	0,13
Resin yang diekstrak menggunakan benzena	7,42
Resin yang diekstrak menggunakan petrolum eter	6,20
Polyphenol	4,39
Asetaldehid	0,26
Asam organik	9,12
a. Asam oksalat	2,18
b. Asm sitrat	1,27
c. Asam hidroksi	4,57
d. Asam volatil	1,12
pH dari air yang terekstrak	5,54
Abu	15,4

#### 2.1.6 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau

Senyawa dalam daun tembakau dapat bersifat antibakteri yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Beberapa senyawa metabolit sekunder seperti

fenol dan senyawa fenolik, alkaloid, dan minyak atsiri memiliki sifat antibakteri (Pelczar dan Chan, 1998).

Antibakteri digambarkan sebagai produk alami organik yang memiliki berat molekul rendah dan dibentuk oleh mikroorganisme serta tumbuhan yang aktif melawan mikroorganisme lain pada konsentrasi rendah. Mekanisme antibakteri dapat dengan cara mempengaruhi dan mengganggu sintesis dinding sel, integritas membran sel, sintesis protein, perbaikan, replikasi dan transkripsi *deoxyribonucleic acid* (DNA) serta mengganggu metabolisme *intermediate* (Wax dkk., 2008).

Antibakteri berdasarkan cara kerjanya dibedakan menjadi dua yaitu bakterisidal dan bakteriostatik. Bakteriostatik adalah zat yang dapat bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan bakterisidal adalah zat yang dapat bekerja dengan mematikan bakteri. Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi. Mekanisme kerja antibakteri diantaranya adalah sebagai berikut (Chomnawang dkk., 2005) :

1. Merusak dinding sel

Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilat di dinding atau membran sel sehingga menyebabkan komposisi penyusun dinding sel berubah. Akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuknya yang tidak terdisosiasi. Molekul-molekul fenol yang terdapat pada minyak *thyme* kebanyakan tidak terdisosiasi, lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein, dan dapat melarut pada fase lipid dari membran bakteri pada konsentrasi rendah.

2. Bereaksi dengan membran sel

Komponen bioaktif dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma yang dapat menyebabkan kebocoran materi intraseluler. Misalnya, senyawa fenol dapat mengakibatkan sel mengalami lisis dan mendenaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma

dan asam nukleat, serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel.

### 3. Menginaktivasi enzim

Kerja enzim akan terganggu dalam proses mempertahankan kelangsungan aktivitas bakteri, sehingga untuk mempertahankan kelangsungan aktivitas tersebut, enzim membutuhkan energi dalam jumlah besar. Karena hal tersebut, energi yang diperlukan untuk proses pertumbuhan menurun dan aktivitas bakteri terhambat. Apabila kondisi ini berlangsung lama akan menyebabkan pertumbuhan bakteri terhenti. Efek senyawa antibakteri dapat menghambat kerja enzim apabila memiliki spesifitas yang sama antara ikatan kompleks penyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antibakteri.

Metabolit sekunder akan memblokir biosintesis dinding sel dengan cara menghambat kerja enzim dalam mensintesis komponen berbeda dari dinding sel. Apabila metabolit ini dapat mempengaruhi integritas membran sel, maka strukturnya akan kacau dan fungsi dari membran bakteri tersebut akan terhambat. Antibakteri yang mempengaruhi proses sintesis protein bertindak sebagai perusak unit ribosom, mengikat pada unit 50S dan mencegah translasi serta mengikat unit 30S sehingga terjadi kesalahan dalam translasi, memproduksi racun, dan mempengaruhi protein. Senyawa antibakteri akan mempengaruhi fungsi perbaikan dan replikasi DNA, menghambat enzim girase, dan topoisomerase serta N-metiltransferase. Beberapa senyawa antibakteri pada akhirnya dapat mengganggu metabolisme *intermediate* dengan cara menghambat enzim dalam proses biosintesis dari substansi yang berbeda.

### 4. Menginaktivasi fungsi material genetik

Komponen bioaktif dapat mengganggu pembentukan asam nukleat, yaitu *ribonucleic acid* (RNA) dan DNA serta menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan merusak materi genetik sehingga terjadi gangguan pada proses pembelahan sel untuk pembiakan.

### 2.1.7 Daya Antijamur Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Konsentrasi nikotin dalam daun tembakau diperkirakan dapat mencapai 6-8%. Nikotin merupakan metabolit sekunder dari ornitin (Ardwiantoro, 2010). Nikotin mempunyai peran dalam menghambat pertumbuhan jamur. Hal tersebut berkaitan dengan fungsi nikotin dalam proses menghambat kerja enzim (Garatfini, 1990). Daun tembakau juga mengandung osmotin yang memiliki efek fungisidal terhadap beberapa jenis jamur patogen. Osmotin merupakan suatu protein dalam tumbuhan yang berfungsi dalam suatu pertahanan atau lebih dikenal dengan nama *protein related* (PR). Osmotin efektif membunuh *Saccharomices cerevisiae* hampir sebesar 50% dari populasi awalnya (Ibeas dkk., 1998).

Efek fungisidal dari osmotin tidak spesifik terhadap satu jenis jamur saja dan merupakan suatu jenis protein tertentu pada daun tembakau yang berfungsi melawan patogen dari luar serta mempertahankan tekanan osmotik tanaman itu sendiri (Yun dkk., 1997). Osmotin berfungsi dalam menghambat pembentukan dan pertumbuhan jamur pada tahap pembentukan spora. Osmotin memiliki fungsi dalam melemahkan dinding sel jamur, dapat mengganggu sintesis dinding sel jamur dan secara umum dapat menghambat pembentukan RNA pada saat sintesis protein pada jamur. Kerusakan dinding sel jamur diakibatkan oleh adanya peningkatan permeabilitas dinding sel yang diakibatkan oleh osmotin. Osmotin meningkatkan porositas dinding sel jamur sehingga mengakibatkan matriks intraselulernya keluar dan terjadi lisis pada jamur tersebut (Abad dkk., 1996).

Flavonoid dalam daun tembakau berfungsi menghambat pembentukan spora jamur patogen. Flavonoid juga efektif dalam menghambat proses pertumbuhan *Candida albicans*. Flavonoid berperan dalam pengerusakan dinding sel jamur (Obongoya dkk., 2010).

Flavonoid dapat berikatan dengan dinding sel jamur melalui sebuah kompleks protein-fenol, yang melibatkan adanya ikatan hidrogen antara protein dan fenol. Kompleks ini nantinya yang mengakibatkan kerusakan (denaturasi) ikatan hidrogen

dalam protein pada dinding sel. Selanjutnya, kerusakan ini menyebabkan matriks intraseluler jamur keluar dan terjadi kematian sel (Cushnie dan Lamb, 2005).

#### 2.1.8 Manfaat Daun Tembakau di Bidang Kesehatan

Tanaman tembakau diketahui mengandung beberapa senyawa penting yaitu, alkaloid (nikotin), flavonoid (fenol) dan minyak atsiri (Palic dkk., 2002; Machado dkk., 2010).

##### a. Alkaloid

Alkaloid secara umum berfungsi dalam meningkatkan tekanan darah, memicu sistem saraf yang baik, sebagai anti mikroba, analgesik dan obat penenang (Simbala, 2009). Alkaloid bersifat antibakteri karena dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel bakteri mengalami lisis dan terjadi kematian sel (Pepeljnjak, 1985).

Alkaloid utama yang terdapat dalam daun tembakau adalah nikotin. Konsentrasi nikotin dalam daun tembakau diperkirakan mencapai 6-8%. Nikotin merupakan metabolit sekunder dari ornitin dan berfungsi menghambat pertumbuhan jamur yang berkaitan dengan fungsi nikotin dalam menghambat kerja enzim (Ardwiantoro, 2010; Garatfini, 1990).

##### b. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari fenol yang mampu mendenaturasi protein dan berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur (Bakh dkk., 2012; Taiga dan Friday, 2009). Flavonoid mengakibatkan kerusakan permeabilitas sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil dari proses interaksi anti flavonoid dengan dinding bakteri. Flavonoid juga melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri (Mirzoeva dkk., 1997). Selain itu, sebagai anti bakteri flavonoid juga memiliki gugus hidroksil yang menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi sehingga menimbulkan efek toksik terhadap bakteri (Markham, 1988). Flavonoid sebagai

antijamur bekerja dengan mengganggu permeabilitas membran sel jamur dan merubah komponen organik serta transport nutrisi yang akhirnya mengakibatkan adanya efek toksik pada jamur (Jupriadi, 2011). Fungsi membran sel yang terganggu juga menyebabkan peningkatan permeabilitas sel hingga akhirnya jamur mati (Jawetz, 1986).

c. Minyak atsiri

Getah daun yang berada dalam bulu-bulu daun tembakau mengandung resin dan minyak atsiri yang dapat berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur (Tirtosastro dan Murdiyati, 2010).

## 2.2 *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* merupakan kelompok *Streptococcus viridans* dan termasuk anggota flora normal rongga mulut. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang bersifat  $\alpha$ -hemolitik dan komensal oportunistik (Samaranayake, 2002; Jawetz dkk., 2005; Regina, 2007; Arora, 2009).

### 2.2.1 Klasifikasi *Streptococcus mutans*

Kedudukan *Streptococcus mutans* dalam taksonomi menurut Bergey dan Boone (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Monera</i>
Divisio	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Lactobacilalles</i>
Family	: <i>Streptococcaceae</i>
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Species	: <i>Streptococcus mutans</i>

### 2.2.2 Morfologi *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* termasuk bakteri Gram-positif yang bersifat *nonmotil* (tidak bergerak) dan merupakan bakteri anaerob fakultatif. *Streptococcus mutans* berbentuk kokus, bulat atau bulat telur dan tersusun dalam suatu rantai. *Streptococcus mutans* merupakan penyebab utama penyakit karies gigi karena bersifat asidogenik atau penghasil asam, asidurik, mampu bertahan hidup di lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida lengket yang disebut *dextran* dan *levan* (Stevens dan Kaplan, 2000).



Gambar 2.3 Bakteri *Streptococcus mutans* (Sumber: <http://queenofsheeba.wordpress.com/2008/07/22/bakteri-streptococcus-mutans/> )

*Streptococcus mutans* tumbuh optimal pada suhu sekitar 18°-40° C (Stevens dan Kaplan, 2000). Pertumbuhan *Streptococcus mutans* cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau kaldu, kecuali diperkaya darah atau cairan jaringan. *Streptococcus mutans* mayoritas tumbuh di media sebagai koloni *discoid* dan biasanya berdiameter sekitar 1-2 mm (Jawetz dkk., 1991). Media lain yang dapat digunakan untuk menumbuhkan *Streptococcus mutans* diantaranya adalah *brain heart infusion broth* (BHIB), *trypticase yeast-extract cystine* (TYC), dan agar darah (Sukanto dkk, 2002).

### 2.3 *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* adalah jenis bakteri anaerob Gram-negatif, *non-motile* dan merupakan bakteri patogen. *Porphyromonas gingivalis* merupakan koloni bakteri berpigmen hitam. *Porphyromonas gingivalis* banyak ditemukan pada plak. *Porphyromonas gingivalis* dapat menyebabkan perubahan yang bersifat patologik di jaringan periodontal dengan mengaktifkan respons imun dan inflamatori pada inang serta secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium (Noril dkk., 1997).

*Porphyromonas gingivalis* merusak jaringan dengan cara berinteraksi secara langsung dengan bakteri dan sel inang (Noril dkk., 1997). Pada saat berkontak langsung dengan epitel di sulkus periodontal, *Porphyromonas gingivalis* menghasilkan berbagai macam faktor virulensi patogenik, seperti lipopolisakarida dan hidrogen sulfida yang dapat menginduksi inang untuk melepaskan mediator inflamasi seperti IL-1, PGE2 dan TNF- $\alpha$  yang akhirnya dapat menyebabkan resorpsi tulang. Selain itu, *Porphyromonas gingivalis* dapat memetabolisme asam amino dan menghasilkan sejumlah metabolit atau produk akhir yang bersifat toksik terhadap jaringan gingiva pada manusia dan berpengaruh terhadap perkembangan suatu penyakit periodontal (Cutler dkk., 1995).

#### 2.3.1 Klasifikasi *Porphyromonas gingivalis*

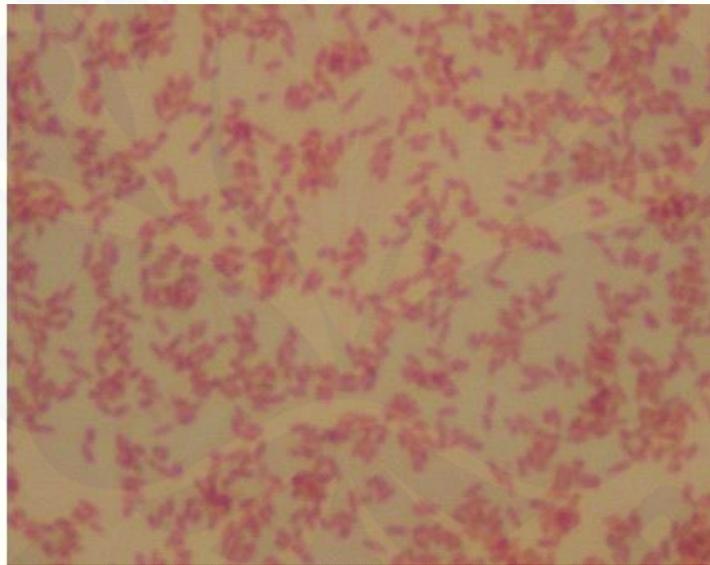
Menurut Leslie (1998), secara taksonomi *Porphyromonas gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Superphylum	: <i>Bacteroidetes/chlorobi group</i>
Phylum	: <i>Bacteroidetes</i>
Class	: <i>Bacteroides</i>
Ordo	: <i>Bacteroidales</i>
Family	: <i>Porphyromonadaceae</i>

Genus : *Porphyromonas*  
Species : *Porphyromonas gingivalis*

### 2.3.2 Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* tidak berspora (*non-spore forming*) dan berbentuk *coccobacilli* dengan diameter 0,5-2  $\mu$  m. Koloni *Porphyromonas gingivalis* pada media kultur terlihat lembut, berkilauan dan cembung. Warna koloni bakteri dapat berubah menjadi hitam karena produksi protoheme yang berlebihan. Protoheme adalah suatu substansi yang bertanggung jawab terhadap warna khas koloni *Porphyromonas gingivalis* (Leslie dkk., 1998).



Gambar 2.4 *Porphyromonas gingivalis* (Sumber: Kusumawardani, 2012).

Suhu maksimal untuk pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* yaitu 37° C. Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* yang signifikan dapat dipengaruhi oleh adanya karbohidrat. Substrat *nitrogenous* seperti *proteose peptone*, *trypticase* dan ekstrak *yeast* dapat meningkatkan pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* (Leslie dkk., 1998).

## 2.4 *Candida albicans*

*Candida albicans* merupakan jamur dimorfik karena mampu tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah hingga akhirnya terbentuk hifa semu. Blastospora berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dan berukuran  $2-5 \mu \times 3-6 \mu$  sampai  $2-5,5 \mu \times 5-28 \mu$  (Hendrawati, 2007).

### 2.4.1 Klasifikasi *Candida albicans*

Menurut Frobisher (1983), kedudukan *Candida albicans* sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Divisi	: <i>Eurocophyta</i>
Kelas	: <i>Deuteromycetes</i>
Ordo	: <i>Saccharomycetales</i>
Famili	: <i>Saccharomycetaceae</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

### 2.4.2 Morfologi *Candida albicans*

*Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu tersebut terbentuk dengan banyak kelompok blastospora yang berbentuk bulat atau lonjong. Pada beberapa *strain*, blastospora ada yang berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol dan dalam jumlah yang tidak banyak. Blastospora dapat berkembang menjadi klamidospora yang memiliki dinding tebal dan berdiameter sekitar  $8-12 \mu$ .



Gambar 2.5 Jamur *Candida albicans* (Sumber: <http://www.optimalhealthnetwork.com/Candida-Albicans-s/202.htm>)

*Candida albicans* pada medium padat *sabouraud dekstroza agar* (SDA) umumnya berbentuk bulat dan memiliki permukaan yang sedikit cembung, halus, licin dan terkadang sedikit berlipat-lipat. Koloni *Candida albicans* berwarna putih kekuningan dan aromanya asam seperti tape. *Candida albicans* tumbuh di dasar tabung pada medium cair seperti *glucose yeast* dan *extract pepton* (Tjampakasari, 2006).

*Candida albicans* pada media SDA dengan pengeraman pada suhu 37° C selama 24 jam menghasilkan koloni-koloni halus berwarna krem dan beraroma seperti ragi. Pertumbuhan permukaannya terdiri dari sel-sel bertunas lonjong. Pertumbuhan di bawah sel-sel bertunas lonjong terdiri dari pseudohifa yang membentuk blastokonidia pada nodus-nodus dan terkadang di bagian ujungnya terdapat klamidokonidia (Simatupang, 2009).

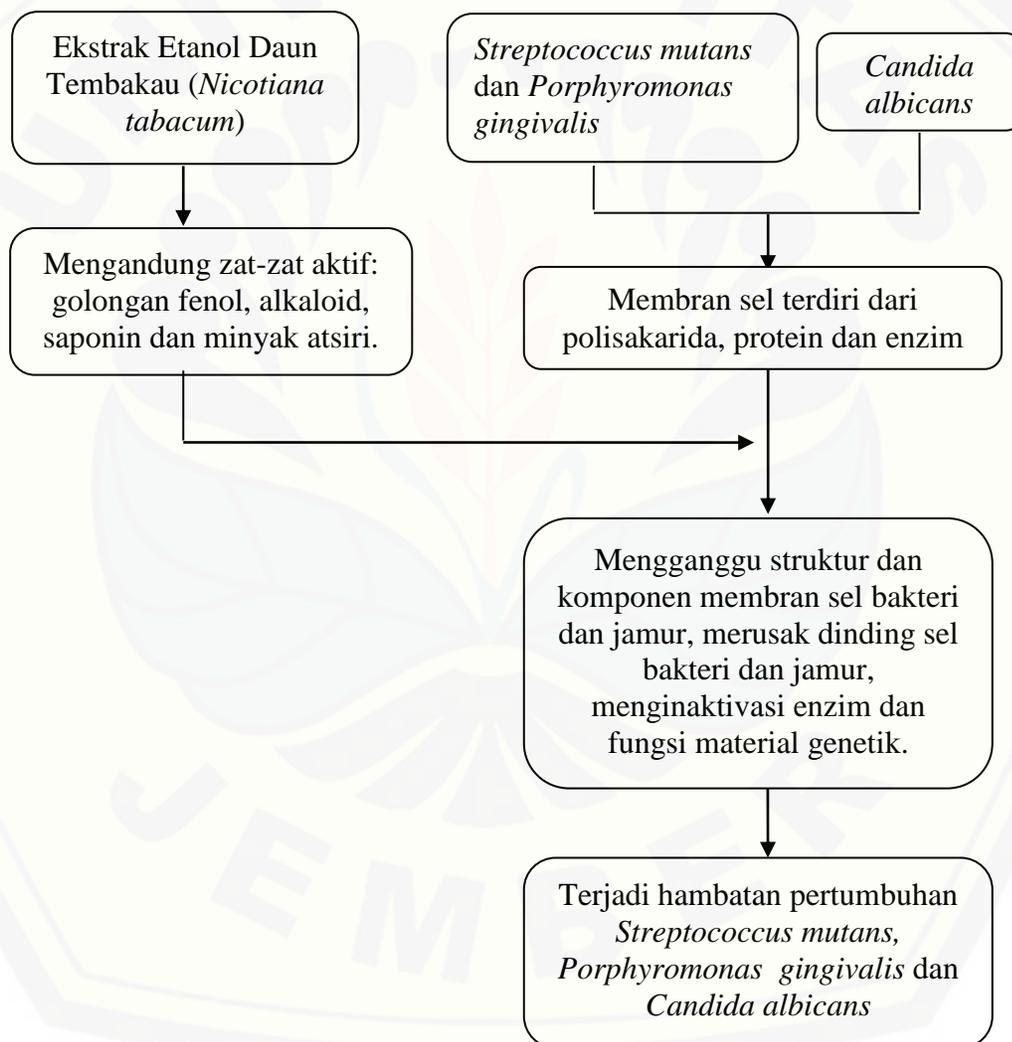
## 2.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

2. Ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
3. Ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

## 2.6 Kerangka Konseptual



Gambar 2.6. Kerangka konsep penelitian

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris yaitu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian dan disertai adanya kontrol (Nazir, 2005). Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol (Santoso dkk., 1994).

### 3.2 Tempat Penelitian

- a. Identifikasi spesies tembakau dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas) Jalan Raya Karangploso 199 Km 4 Malang, Jawa Timur,
- b. Pembuatan ekstrak etanol daun tembakau dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi, Universitas Jember,
- c. Uji aktivitas antibakteri dan antijamur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

### 3.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014.

### 3.4 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas

Ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*),

b. Variabel terikat

Daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans*,

c. Variabel terkontrol

Diameter kertas cakram (5 mm), volume ekstrak etanol daun tembakau yang diteteskan pada kertas cakram (13  $\mu$  L) dan waktu pengamatan (24 dan 48 jam).

### 3.5 Definisi Operasional

- a. Ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) diambil dari daun tembakau kasturi usia muda campuran dari bagian atas dan tengah yang kemudian diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi. Daun tembakau yang digunakan berasal dari Desa Tanjung Rejo Kecamatan Wuluhan Kabupaten Jember, Jawa Timur.
- b. Daya hambat diketahui dengan mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans*. Zona hambat adalah daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram yang diukur menggunakan jangka sorong dalam skala millimeter untuk mengetahui kekuatan daya hambat ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans*.
- c. Diameter zona hambat 5 mm berarti tidak terdapat daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram.

### 3.6 Sampel Penelitian

Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan jumlah sampel menurut Federer (1991) yaitu sebagai berikut:

$$(n - 1) \times (t - 1) \geq 15$$

Keterangan :

n : jumlah pengulangan

t : jumlah perlakuan

Pengulangan jumlah sampel pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

$$(n - 1) \times (t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \times (7 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \times 6 \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$n \geq 3,5 \approx 4$$

Sampel yang akan digunakan pada penelitian dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan yaitu :

- a. Kelompok I : kontrol negatif dimetil sulfoksida/DMSO 1%,
- b. Kelompok II : kontrol positif (*Chlorexidín gluconate* 0,2%),
- c. Kelompok III : ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%,
- d. Kelompok IV : ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%,
- e. Kelompok V : ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%,
- f. Kelompok VI : ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%,
- g. Kelompok VII : ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%.

Berdasarkan hasil perhitungan di atas, diperoleh jumlah sampel minimal adalah 4 untuk setiap kelompok perlakuan baik pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* sehingga jumlah sampel total pada penelitian ini adalah 84 kertas cakram.

### 3.7 Kriteria Sampel

- a. Daun tembakau segar usia 50-60 hari,
- b. Ujung daun tembakau tidak menggulung,
- c. Daun tembakau berwarna hijau dan tebal,
- d. Daun tembakau bagian atas dan tengah petikan ke 5-10 dari atas ke bawah.

### 3.8 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah :

1. Pembuatan ekstrak daun tembakau
  - a. Toples kaca dilengkapi dengan tutupnya,
  - b. Evaporator,
  - c. Cawan porselin,
  - d. Spatula,
  - e. Blender (Sharp, Indonesia),
  - f. Gelas ukur,
  - g. Neraca (Cent-O-Cram, Ohaus, USA),
  - h. *Waterbath*,
  - i. Kertas saring kimia.
2. Pengenceran Konsentrasi Ekstrak
  - a. Mikropipet (Eppendorf, Germany),
  - b. Tabung reaksi,
  - c. *Thermolyne*.
3. Uji antibakteri dan antijamur
  - a. Tabung Erlenmeyer (Schott Duran, Germany),
  - b. *Petridish* tidak bersekat,
  - c. Ose (Nikrom, Indonesia),
  - d. Bunsen (Pyrex, Japan),
  - e. Tabung reaksi (Pyrex, Japan),

- f. Jangka sorong (Medesy, Italy) dengan derajat ketelitian 0,5 mm,
- g. Mikropipet (Eppendorf, Germany),
- h. Kompor listrik (Maspion, Indonesia),
- i. Spektrofotometer (Milton Roy, Spectronic 20+, Germany),
- j. *Laminar flow* (tipe HF-100, Korea),
- k. *Incubator* (Binder, tipe 175053099003100, Germany),
- l. *Autoclave* (Mettler, Germany),
- m. Sterilisator panas kering (Oven),
- n. Pinset (Dentica, Stainless steel, France),
- o. *Stopwatch*,
- p. Pelubang kertas atau *two hole punch*,
- q. Gigaskrin,
- r. Desikator.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut ini:

- a. Daun tembakau kasturi dari Desa Tanjung Rejo Kecamatan Wuluhan Kabupaten Jember, Jawa Timur,
- b. Suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans*,
- c. DMSO 1%,
- d. *Chlorexidn gluconate* 0,2%,
- e. Larutan Standar *Mc Farland* 0,5 dan 1,
- f. Media kultur TSA dengan 5% *sheep blood*  
Diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta dan dikemas dalam *petridish*. Kandungan TSA dengan 5% *sheep blood* terdiri dari agar, kedelai, kasein NaCl, dan mineral (Prodanisa, 2010),
- g. Media SDA,
- h. Etanol 96%,
- i. Aquadest,

- j. Kertas saring kimia,
- k. Alkohol 70% (One med, Indonesia),
- l. Kertas cakram dari kertas saring Whatman No. 42,
- m. Spidol dan kertas label,
- n. Masker dan sarung tangan (One Med, Indonesia).

### 3.9 Prosedur Penelitian

#### 3.9.1 Tahap Persiapan

##### a. Identifikasi tanaman

Pada tahap awal penelitian, dilakukan identifikasi daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang akan diambil ekstraknya,

##### b. Sterilisasi alat

Semua alat yang terbuat dari gelas atau kaca seperti gelas ukur, *petridish*, tabung reaksi dan lain lain disterilkan menggunakan sterilisator panas kering atau oven dengan suhu 160° C selama 10 menit, sedangkan semua alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas menggunakan alkohol 70% (Cappucino dan Sherman, 2005).

#### 3.9.2 Proses Ekstraksi Daun Tembakau Menggunakan Etanol dengan Metode Maserasi

a. Proses mengekstrak diawali dengan menyediakan daun tembakau segar yang telah dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara kering angin selama satu minggu pada suhu kamar,

b. Daun tembakau yang sudah dikeringkan tersebut kemudian dihaluskan menggunakan blender,

c. Daun tembakau yang sudah dihaluskan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca sebanyak 250 gr kemudian direndam dengan

- menggunakan etanol 96% sebanyak 1.875 ml, setelah itu dilakukan pengadukan menggunakan spatula, ditutup rapat menggunakan tutup toples,
- d. Mendinginkan rendaman tersebut selama 3x24 jam, tetapi tetap dilakukan pengadukan setiap harinya menggunakan spatula,
  - e. Memisahkan ampas dan filtrat rendaman dengan cara disaring menggunakan kertas saring kimia, untuk memperoleh ekstrak cair daun tembakau,
  - f. Untuk mendapatkan ekstrak kental, maka diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50° C,
  - g. Selanjutnya akan diperoleh ekstrak kental lalu ekstrak tersebut dituang ke dalam cawan porselen dan diuapkan lagi dengan *waterbath* kemudian diangin-anginkan pada suhu kamar,
  - h. Proses ekstraksi selesai dan diperoleh ekstrak kental daun tembakau.

### 3.9.3 Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Tembakau

Untuk penelitian ini digunakan ekstrak etanol daun tembakau dengan konsentrasi 20 %, 40%, 60%, 80% dan 100%. Pengenceran dilakukan dengan rumus sebagai berikut ini (Rohaya, 2014):

$$V1.M1 = V2.M2$$

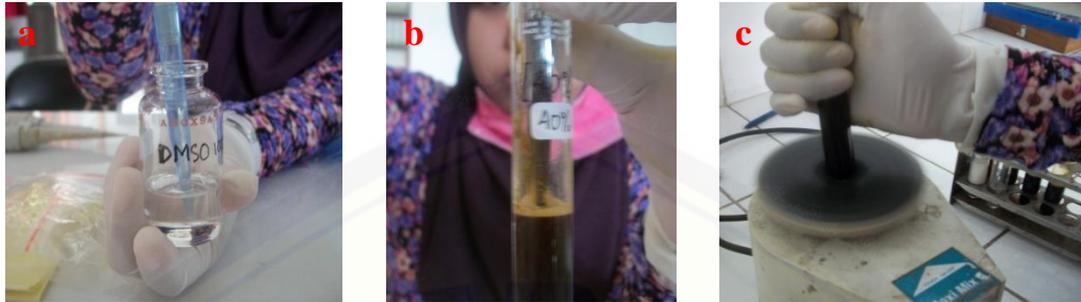
V = Volume awal ekstrak etanol daun tembakau

M1 = Konsentrasi awal ekstrak etanol daun tembakau

V2 = Volume akhir ekstrak etanol daun tembakau

M2 = Konsentrasi Akhir ekstrak etanol daun tembakau

Hasil ekstraksi daun tembakau diencerkan dengan pelarut DMSO 1% untuk memperoleh konsentrasi ekstrak yang dikehendaki dalam perlakuan .



Gambar 3.1 Proses pengenceran (a) Pengenceran DMSO konsentrasi 100% menjadi konsentrasi 1% menggunakan aquadest; (b) Pengenceran ekstrak etanol daun tembakau menggunakan DMSO %; (c) Menghomogenkan ekstrak etanol daun tembakau menggunakan *thermolyne*.

#### 3.9.4 Pembuatan Media Kultur

##### a. Media kultur bakteri

Pada penelitian ini digunakan media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* yang sudah siap digunakan dan sudah dikemas dalam *petridish*. Media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*,

##### b. Media kultur jamur

Membuat media kultur SDA untuk media pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan cara mencampur 15 gr bubuk SDA dan 300 mL aquades kemudian disterilkan dengan *autoclave* 121° C selama 15 menit dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 50° C. Selanjutnya dituangkan ke dalam *petridish* dan dimasukkan ke lemari pendingin.

#### 3.9.5 Pembuatan Suspensi Bakteri dan Jamur

##### a. Suspensi *Streptococcus mutans*

Suspensi bakteri *Streptococcus mutans* berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan dibuat

dengan mengambil 4-5 ose bakteri *Streptococcus mutans* dari sediaan biakan serta dilarutkan dalam 0,5 *brain heart infusion* (BHI) cair pada tabung reaksi. Kemudian suspensi tersebut diinkubasi selama 3-5 jam dengan suhu 37° C. Setelah itu, suspensi tersebut dilarutkan kembali dengan media BHI cair sampai mencapai 0,5 *Mc Farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri  $3 \times 10^6$  CFU/mL,

b. Suspensi *Porphyromonas gingivalis*

Suspensi *Porphyromonas gingivalis* berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan dibuat dengan mengambil 4-5 ose bakteri *Porphyromonas gingivalis* dari sediaan biakan serta dilarutkan dalam 0,5 BHI cair pada tabung reaksi. Setelah itu, suspensi tersebut dimasukkan ke dalam desikator terlebih dahulu untuk mendapatkan suasana anaerob. Kemudian suspensi tersebut diinkubasi selama 3-5 jam dengan suhu 37° C. Setelah dikeluarkan dari inkubator, suspensi tersebut dilarutkan kembali dengan media BHI cair sampai mencapai 0,5 *Mc Farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri  $3 \times 10^6$  CFU/mL.

c. Suspensi *Candida albicans*

Suspensi *Candida albicans* berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan dibuat dengan mengambil 1 ose jamur *Candida albicans* dan dimasukkan pada media SDA dengan volume 5 mL, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada 37° C. Setelah dikeluarkan dari inkubator, suspensi *Candida albicans* disesuaikan dengan kekeruhan menurut larutan standar *Mc Farland* 1 atau sebanding dengan jumlah jamur  $3 \times 10^8$  CFU/mL.

### 3.9.6 Inokulasi Bakteri dan Jamur

- a. Inokulasi bakteri dan jamur dilakukan menggunakan teknik *spread plate* pada media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta media kultur SDA pada jamur *Candida albicans*, masing-masing media kultur terlebih dahulu dibagi menjadi empat bagian menggunakan spidol,



Gambar 3.2 Pembagian media kultur menjadi empat bagian.

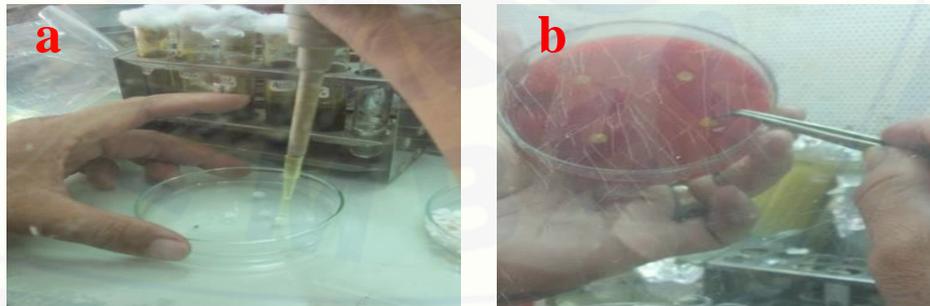
- b. Suspensi inokulum bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* diambil sebanyak 200  $\mu\text{L}$  kemudian ditetaskan pada masing-masing media kultur dan diratakan di atas permukaan media kultur menggunakan gigaskrin.



Gambar 3.3 Inokulasi mikroba dengan metode *spread plate*.

### 3.9.7 Uji Daya Hambat Antibakteri dan Antijamur

- a. Uji daya hambat antibakteri dan antijamur dilakukan dengan menggunakan metode *disc-diffusion* pada media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta media kultur SDA pada jamur *Candida albicans*,
- b. Membuat kertas cakram dari kertas saring Whatman No. 42. Kertas saring Whatman No. 42 dipotong dengan diameter 5 mm menggunakan alat pelubang kertas atau *two hole punch* kemudian disterilkan menggunakan oven,
- c. Kertas cakram steril ditetesi dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20 %, 40%, 60%, 80% sampai dengan 100% sebanyak 13  $\mu$ L menggunakan mikropipet kemudian didiamkan selama satu menit sampai menyerap dan kering. Kemudian kertas cakram tersebut ditempelkan di atas masing-masing permukaan media kultur yang telah diinokulasi dengan biakan bakteri dan jamur menggunakan pinset steril. Setelah itu, kertas cakram ditekan secara perlahan menggunakan pinset steril untuk memastikan bahwa kertas cakram sudah benar-benar menempel pada masing-masing media kultur yang digunakan. Cara peletakan kertas cakram pada media kultur untuk kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan seperti pada kelompok perlakuan,



Gambar 3.4 Proses Uji Daya Hambat Antibakteri dan Antijamur (a) Meneteskan ekstrak etanol daun tembakau pada kertas cakram dan (b) Meletakkan kertas cakram yang sudah diberi perlakuan.

- d. Masing-masing sampel dibuat empat kali ulangan,
- e. Media kultur dibalik supaya uap pada permukaan tutup media kultur tidak jatuh mengenai permukaan media kultur,
- f. Dilakukan inkubasi selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 37° C.



Gambar 3.5 Proses inkubasi media kultur.

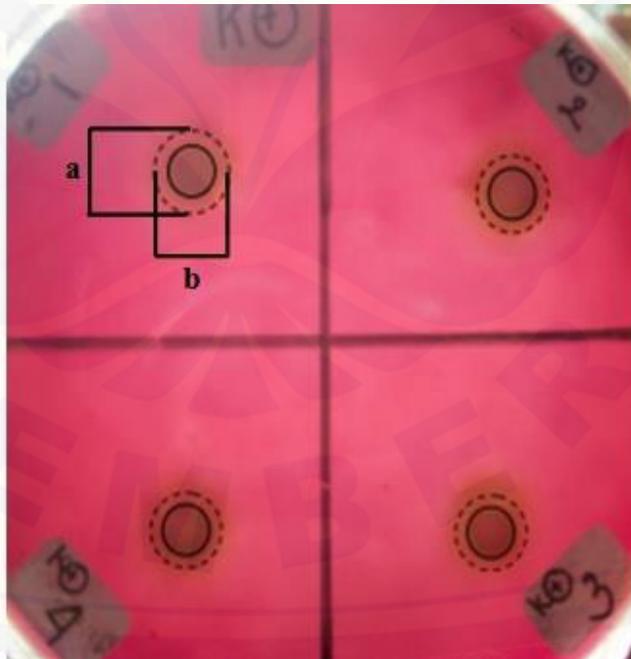
#### 3.9.8 Pengukuran Zona Hambat

- a. Melakukan pengukuran zona hambat pada media kultur yang telah diberi perlakuan, pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* dilakukan menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh 3 orang pengamat yang berbeda dan diambil rata-rata,



Gambar 3.6 Proses pengukuran diameter zona hambat.

- b. Zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* adalah daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram yang diukur menggunakan jangka sorong dalam skala millimeter untuk mengetahui kekuatan daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans*,
- c. Cara pengukuran zona hambat yaitu 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. Jadi diameter zona hambatnya =  $\frac{a+b}{2}$  (Majidah, 2014).

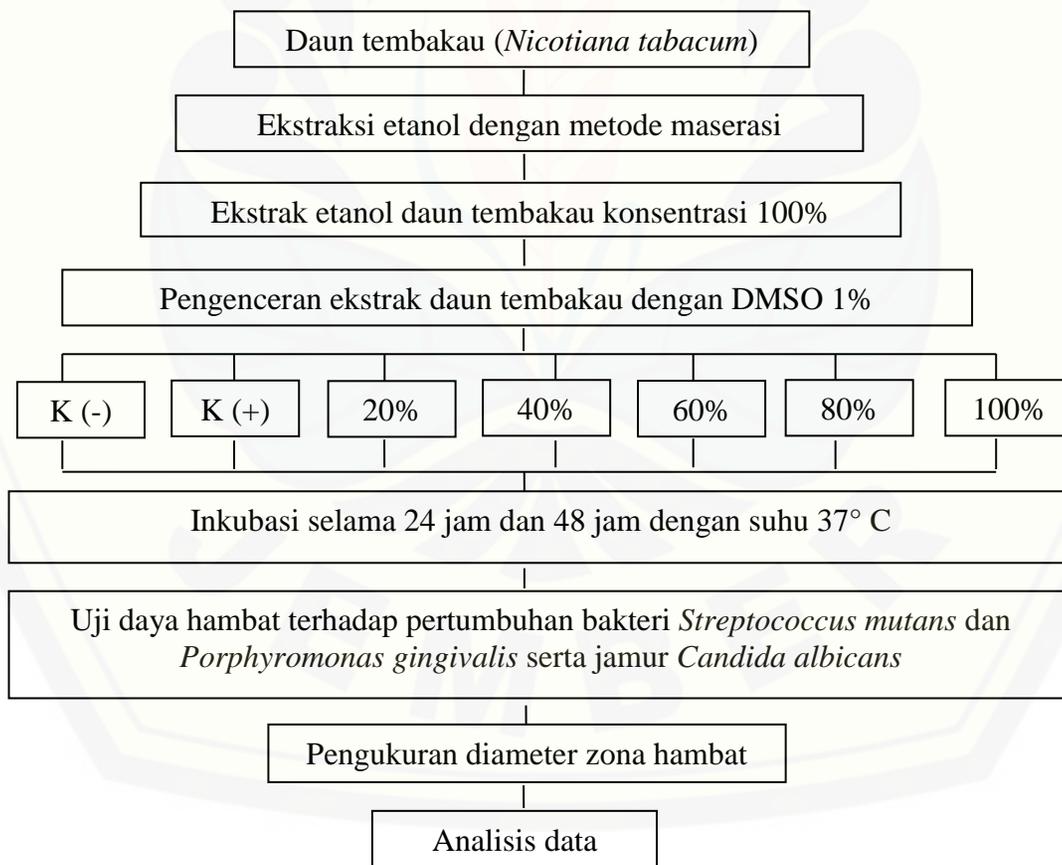


Gambar 3.7 Cara pengukuran diameter zona hambat dengan mengukur diameter terpanjang (a) dan diameter terpendek (b).

### 3. 9.9 Analisis Data

Data hasil penelitian diuji menggunakan uji normalitas *Shapiro-wilk* ( $p > 0,05$ ) dan uji homogenitas *Levene*. Kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik ANOVA satu arah (*One Way ANOVA*) dengan derajat kemaknaan 95% ( $p < 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan uji *Least Significance Different* (LSD) untuk mengetahui besar perbedaan antar kelompok pada data bakteri *Porphyromonas gingivalis* serta uji non parametrik *Kruskal Wallis* dengan derajat kemaknaan 95% ( $p < 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan uji statistik *Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ( $p < 0,05$ ) pada data bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*.

### 3.10 Alur Penelitian



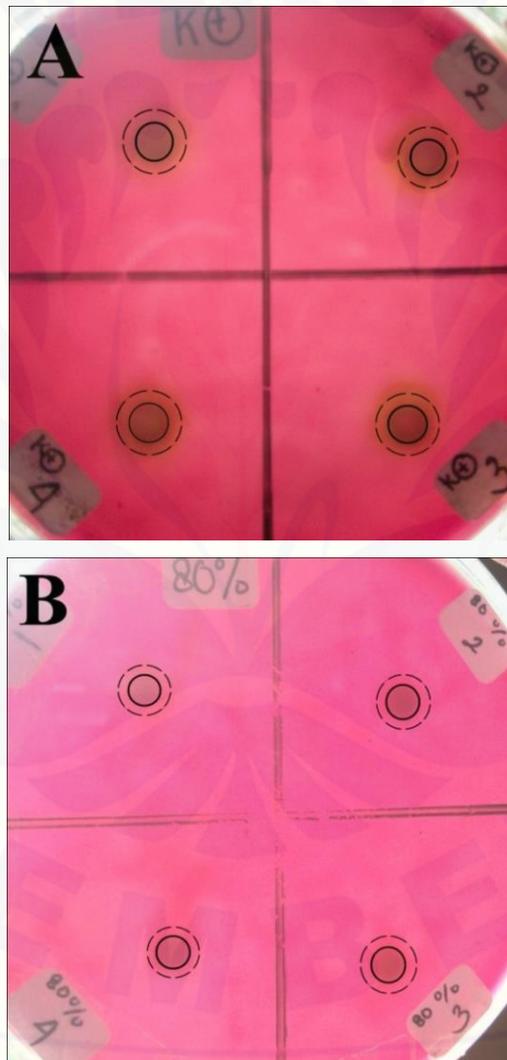
## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

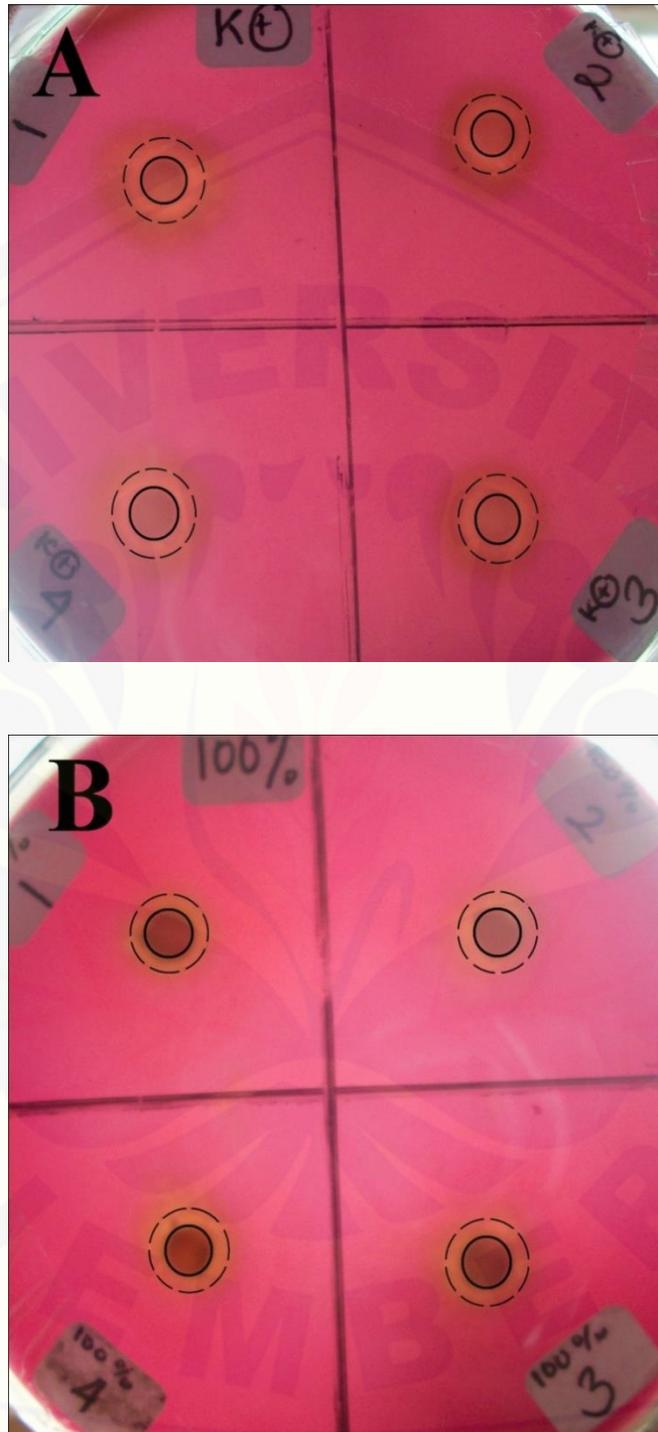
Penelitian ini merupakan uji aktivitas antimikroba yang pada dasarnya adalah uji antibakteri dan antijamur ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta terhadap jamur *Candida albicans* selama 24 dan 48 jam. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan metode *disc-diffusion* pada media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta media kultur SDA pada jamur *Candida albicans*. Daya antibakteri dan antijamur tersebut diamati dengan mengukur terbentuknya diameter zona hambat berupa daerah atau wilayah jernih di sekeliling kertas cakram yang kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong dalam skala milimeter.

Data yang digunakan pada penelitian ini hanya data pada hari ke-1 (24 jam) karena pada hari ke-2 (48 jam) zona hambat sudah ditumbuhi mikroba sehingga dapat dikatakan bahwa tidak terdapat pengaruh ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan mikroba, yaitu bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans*. Hasil uji ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% memiliki diameter zona hambat terbesar pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dibandingkan dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 100%, sedangkan hasil uji ekstrak etanol daun tembakau terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan jamur *Candida albicans* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% memiliki diameter zona hambat terbesar pada pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan jamur *Candida albicans* dibandingkan dengan ekstrak etanol daun

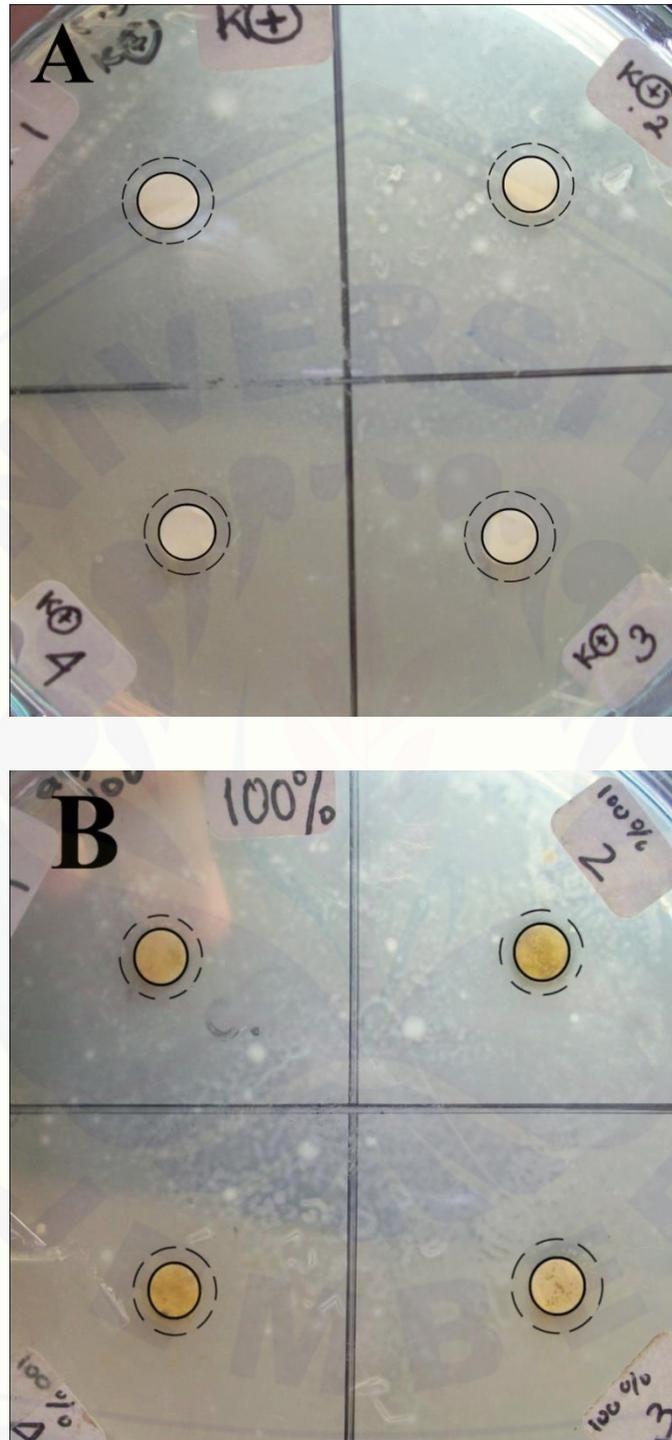
tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%. Namun, ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% pada pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* tersebut memiliki diameter zona hambat yang besarnya hampir sama dengan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh *chlorhexidine gluconate* 0,2% (Gambar 4.1-4.3). Gambar selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran A.



Gambar 4.1 Hasil pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada hari ke-1 (24 jam) yang diberi perlakuan *chlorhexidine gluconate* 0,2% (A) dan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% (B).



Gambar 4.2 Hasil pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada hari ke-1 (24 jam) yang diberi perlakuan *chlorhexidine gluconate* 0,2% (A) dan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%.



Gambar 4.3 Hasil pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada hari ke-1 (24 jam) yang diberi perlakuan *chlorhexidine gluconate* 0,2% (A) dan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%.

Zona hambat yang terbentuk pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan adanya daya hambat atau daya antibakteri ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa pada hari ke-1 (24 jam), tidak terbentuk zona hambat pada kelompok kontrol negatif (DMSO 1%), yang berarti bahwa kelompok tersebut tidak memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Kelompok kontrol positif (*chlorhexidine gluconate* 0,2%) memiliki diameter zona hambat terbesar ( $7,97 \pm 0,17$ ), yang berarti bahwa kelompok tersebut memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, sedangkan kelompok ekstrak etanol daun tembakau memperlihatkan adanya zona hambat, dimana zona hambat mulai terbentuk pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%. Diameter zona hambat bertambah sesuai dengan penambahan konsentrasi ekstrak yang diuji, kecuali pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dan 100%, dimana diameter zona hambat ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% lebih besar dari ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% (Gambar 4.1; Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans* pada hari ke-1 (24 jam) dalam satuan milimeter (mm)

Kelompok	n	Diameter zona hambat		
		<i>Streptococcus mutans</i> ( $X \pm SD$ )	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ( $X \pm SD$ )	<i>Candida albicans</i> ( $X \pm SD$ )
Kontrol positif	4	$7,97 \pm 0,17$	$8,52 \pm 0,44$	$7,80 \pm 0,30$
Kontrol negatif	4	$5,00 \pm 0,00$	$5,00 \pm 0,00$	$5,00 \pm 0,00$
Konsentrasi 20%	4	$6,12 \pm 0,10$	$5,82 \pm 0,23$	$6,50 \pm 0,26$
Konsentrasi 40%	4	$6,13 \pm 0,10$	$6,48 \pm 0,28$	$6,65 \pm 0,10$
Konsentrasi 60%	4	$6,51 \pm 0,41$	$7,31 \pm 0,30$	$6,86 \pm 0,05$
Konsentrasi 80%	4	$7,41 \pm 0,20$	$7,43 \pm 0,37$	$7,12 \pm 0,13$
Konsentrasi 100%	4	$7,34 \pm 0,07$	$7,53 \pm 0,37$	$7,60 \pm 0,50$

Keterangan:

n = jumlah sampel,  
 $(X \pm SD)$  = (rata-rata  $\pm$  standar deviasi),

Daya hambat atau daya antibakteri ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hasil pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* menunjukkan bahwa pada hari ke-1 (24 jam), tidak terbentuk zona hambat pada kelompok kontrol negatif (DMSO 1%), yang berarti bahwa kelompok tersebut tidak memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Kelompok kontrol positif (*chlorhexidine gluconate* 0,2%) memiliki diameter zona hambat terbesar ( $8,52 \pm 0,44$ ), yang berarti bahwa kelompok tersebut memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*, sedangkan kelompok ekstrak etanol daun tembakau memperlihatkan adanya zona hambat, dimana zona hambat mulai terbentuk pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%. Diameter zona hambat bertambah sesuai dengan penambahan konsentrasi ekstrak yang diuji (Gambar 4.2; Tabel 4.1).

Pertumbuhan jamur *Candida albicans* menunjukkan adanya daya hambat atau daya antijamur ekstrak etanol daun tembakau dengan adanya zona hambat yang terbentuk. Hasil pertumbuhan jamur *Candida albicans* menunjukkan bahwa pada hari ke-1 (24 jam), zona hambat pada kelompok kontrol negatif (DMSO 1%) tidak terbentuk, yang berarti bahwa kelompok tersebut tidak memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Kelompok kontrol positif (*chlorhexidine gluconate* 0,2%) memiliki diameter zona hambat terbesar ( $7,80 \pm 0,30$ ), yang berarti bahwa kelompok tersebut memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*, sedangkan kelompok ekstrak etanol daun tembakau memperlihatkan adanya zona hambat, dimana zona hambat mulai terbentuk pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%. Diameter zona hambat bertambah sesuai dengan penambahan konsentrasi ekstrak yang diuji (Gambar 4.3; Tabel 4.1).

#### 4.2 Analisa Data

Pada hari ke-1 (24 jam), hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa nilai probabilitas semua kelompok perlakuan baik pada data bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Hal ini berarti semua kelompok perlakuan baik pada data bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* terdistribusi normal. Sedangkan pada hari ke-2 tidak dilakukan analisa karena berdasarkan data pengamatan menunjukkan bahwa pada hari ke-2 (48 jam) ekstrak etanol daun tembakau tidak memberikan pengaruh baik terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* (Lampiran B).

Hasil uji homogenitas dengan uji *Levene-Statistic* menunjukkan bahwa nilai probabilitas pada data bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans* kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti data diameter zona hambat pada bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans* memiliki variansi yang tidak homogen, sedangkan nilai probabilitas data bakteri *Porphyromonas gingivalis* lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) yang berarti data diameter zona hambat pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* memiliki variansi yang homogen (Lampiran C).

Uji normalitas dan homogenitas pada data bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans* menunjukkan data berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga untuk menganalisis perbedaan dari masing-masing kelompok digunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dengan derajat kemaknaan 95% ( $p < 0,05$ ) (Lampiran D).

Hasil uji nonparametrik dengan uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa nilai probabilitas kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) yaitu 0,000. Hasil tersebut berarti bahwa daya hambat antibakteri dan antijamur masing-masing kelompok memiliki perbedaan yang bermakna. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ( $p < 0,05$ ) untuk mengetahui perbedaan diameter zona hambat masing-masing

kelompok perlakuan baik pada bakteri *Streptococcus mutans* ataupun jamur *Candida albicans* (Lampiran E).

Hasil uji *Mann Whitney* pada data bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada beberapa kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ), yaitu antara kelompok *chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan kelompok DMSO 1%, ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Kelompok DMSO 1% dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% juga menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dan 100%. Kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dan 100%. Kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dan 100%, sedangkan antara kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dan 60%, antara kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%, dan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) (Lampiran E).

Hasil uji *Mann Whitney* pada data jamur *Candida albicans* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada beberapa kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ), yaitu antara kelompok *chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan kelompok DMSO 1%, ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Kelompok DMSO 1% dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% juga menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau

konsentrasi 60%, 80% dan 100%. Kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%, 80% dan 100%. Kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dan 100%, sedangkan antara kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%, antara kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%, dan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% dengan kelompok *chlorhexidine gluconate* 0,2% tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) (Lampiran E).

Uji normalitas dan homogenitas pada data bakteri *Porphyromonas gingivalis* menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen, sehingga dilakukan uji parametrik *One Way ANOVA* yang menunjukkan bahwa nilai probabilitas kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) yaitu 0,000 yang berarti masing-masing kelompok memiliki perbedaan yang bermakna (Lampiran F). Selanjutnya dilakukan uji LSD dengan derajat kemaknaan 95% ( $p < 0,05$ ) pada data bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Lampiran G).

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada beberapa kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ), yaitu antara kelompok *chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan kelompok DMSO 1%, ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Kelompok DMSO 1% dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% juga menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100%. Kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%, 80% dan 100%, sedangkan antara kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% dengan

ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dan 100% serta antara kelompok ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dan 100%, tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

### 4.3 Pembahasan

Terdapat variasi diameter zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Tabel 4.1). Berdasarkan klasifikasi Corner dan Beuchat (dalam Elgayyar dkk., 2001), pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada hari ke-1 (24 jam) menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif DMSO 1% termasuk dalam kategori tidak menghambat pertumbuhan bakteri (diameter zona hambat  $< 6$  mm), sedangkan kelompok kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%-100% memiliki rata-rata diameter zona hambat yang termasuk dalam kategori penghambat sedang (diameter zona hambat  $> 6$  mm sampai  $< 11$  mm). Diameter zona hambat bertambah sesuai dengan penambahan konsentrasi ekstrak etanol daun tembakau yang diuji, kecuali pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dan 100%, dimana diameter zona hambat ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% lebih besar dari ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%, meskipun rata-ratanya tidak jauh berbeda dan setelah diuji statistik perbedaannya juga tidak signifikan. Hal tersebut diduga dapat terjadi karena berbagai kekurangan dalam penelitian seperti ketidakteelitian dalam pengukuran atau penghitungan diameter zona hambat (Ningtyas, 2012).

Pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* hari ke-1 (24 jam) menunjukkan berbagai variasi diameter zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan (Tabel 4.1). Berdasarkan klasifikasi Corner dan Beuchat (dalam Elgayyar, 2001), pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada hari ke-1 (24 jam), kontrol negatif DMSO 1% dan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% termasuk dalam kategori tidak menghambat pertumbuhan bakteri (diameter zona

hambat <6 mm). Kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%-100% memiliki rata-rata diameter zona hambat yang termasuk dalam kategori penghambat sedang (diameter zona hambat >6 mm sampai <11 mm). Diameter zona hambat bertambah sesuai dengan penambahan konsentrasi ekstrak yang diuji.

Pertumbuhan hari ke-1 (24 jam) jamur *Candida albicans* memiliki berbagai variasi diameter zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan (Tabel 4.1). Berdasarkan klasifikasi Corner dan Beuchat (dalam Elgayyar, 2001), pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada hari ke-1 (24 jam), kontrol negatif DMSO 1% termasuk dalam kategori tidak menghambat pertumbuhan bakteri (diameter zona hambat <6 mm). Kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%-100% memiliki rata-rata diameter zona hambat yang termasuk dalam kategori penghambat sedang (diameter zona hambat >6 mm sampai <11 mm). Diameter zona hambat bertambah sesuai dengan penambahan konsentrasi ekstrak yang diuji. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelezar dan Chan (dalam Dharmawati, 2011) bahwa aktivitas antimikroba akan semakin kuat seiring dengan semakin tingginya konsentrasi suatu bahan antimikroba.

Pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan mengalami penurunan diameter zona hambat pada hari ke-2 (48 jam), hal ini diduga karena semakin lama suatu bahan digunakan, zat yang terdifusi akan semakin berkurang sehingga aktivitas antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur akan semakin rendah. Selain itu, hal tersebut juga diduga diakibatkan semakin lama masa inkubasi maka semakin besar kemungkinan mikroba untuk mulai berkembang biak seiring dengan berkurangnya efektifitas suatu zat atau obat (Choiroh, 2006).

Penurunan diameter zona hambat ekstrak etanol daun tembakau diduga juga dapat disebabkan oleh aktivitas senyawa flavonoid di dalam ekstrak etanol daun tembakau memiliki sifat yang tidak stabil terhadap perubahan pengaruh oksidasi,

cahaya dan perubahan kimia sehingga apabila terjadi oksidasi strukturnya akan mengalami perubahan dan fungsinya sebagai bahan aktif akan menurun bahkan hilang dan kelarutannya menjadi rendah (Handayani dan Joko, 2008).

Kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan bermakna pada hari ke-1 (24 jam), baik pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* dapat diartikan bahwa aktivitas antibakteri dan antijamur ekstrak etanol daun tembakau bersifat tidak kontinyu dan tidak seefektif kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% . Hal ini diduga karena ekstrak etanol daun tembakau yang digunakan merupakan ekstrak kasar dan penurunan aktivitas antimikroba dari ekstrak kasar memiliki sifat yang tidak kontinyu karena mengandung semua bahan yang tersari dengan menggunakan pelarut organik. Hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan Dewi (2010) yang menunjukkan bahwa kelarutan senyawa antimikroba yang dihasilkan ekstrak kasar belum maksimal, sehingga aktivitasnya sebagai antimikroba juga belum maksimal. Faktor lain yang diduga berpengaruh terhadap penurunan aktivitas antibakteri dan antijamur adalah adanya kandungan senyawa flavonoid yang bersifat tidak stabil. Apabila dibandingkan dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2%, *chlorhexidine gluconate* 0,2% dapat bekerja secara lebih efektif karena mengandung *amidine* dan *quanidine* yang efektif terhadap bakteri Gram-positif, bakteri Gram-negatif dan jamur (Nareswari, 2010). Selain itu, *chlorhexidine gluconate* 0,2% mempunyai gugus kimia *16-bis-p chlorophenylbiguanidohexane* yang berfungsi sebagai antimikroba dengan spektrum yang luas sehingga memiliki daya antibakteri dan antijamur. Sedangkan DMSO 1% merupakan bahan yang tidak memiliki sifat antibakteri dan antijamur, karena DMSO baru akan memiliki daya antibakteri dan antijamur pada konsentrasi lebih dari 10% (Rusli dkk., 2010).

Kandungan ekstrak etanol daun tembakau yang diduga menyebabkan adanya aktivitas antibakteri adalah bahan aktif pada sampel. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rusli dkk. (2010), membuktikan bahwa daun tembakau mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid. Senyawa-senyawa tersebut

bersifat antibakteri dengan mekanisme menghambat pertumbuhan bakteri yang khas sesuai dengan karakteristiknya masing-masing. Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri pada prinsipnya yaitu bekerja dengan menyebabkan kerusakan pada proses sintesis DNA dan dinding sel (Cowan, 1999).

Senyawa lain pada ekstrak etanol daun tembakau yang juga diduga berperan sebagai antibakteri adalah flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol (Middleton dan Chitan 1994). Flavonoid mempunyai spektrum aktivitas antibakteri yang luas dengan cara mengurangi kekebalan organisme sasaran (Naidu, 2000). Mekanisme antibakteri flavonoid yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Cowan, 1999). Membran sitoplasma diketahui berperan mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel dan mengatur proses keluar masuknya bahan-bahan bagi sel. Membran berfungsi untuk memelihara integritas komponen-komponen seluler. Zat antibakteri akan mengakibatkan kerusakan pada membran sel. Kerusakan pada membran sel ini menyebabkan pertumbuhan sel terganggu bahkan dapat menyebabkan sel mati (Akiyama dkk., 2001). Menurut Dwidjoseputro (1994), flavonoid merupakan golongan senyawa fenol yang dapat bersifat koagulator protein.

Senyawa terpenoid merupakan golongan minyak atsiri yang juga diduga sebagai senyawa yang berperan sebagai antibakteri. Menurut Nychas dan Tassou (2000), minyak atsiri dapat menghambat kerja enzim yang terlibat dalam produksi energi dan pembentukan komponen struktural sehingga mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Mekanisme kerusakan dinding sel diakibatkan karena adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel sehingga terjadi perubahan komposisi penyusun dinding sel. Minyak atsiri yang aktif berfungsi sebagai antibakteri pada umumnya juga mengandung fenol yang merupakan gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil (Beuchat, 1994). Turunan dari fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Fenol dengan kadar rendah akan menyebabkan terbentuknya kompleks

protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian diikuti penetrasi fenol ke dalam sel serta menyebabkan terjadinya presipitasi serta denaturasi protein. Fenol pada kadar tinggi akan menyebabkan koagulasi protein dan membran sel akan mengalami lisis (Parwata dan Dewi, 2008).

Kandungan bahan dalam ekstrak etanol daun tembakau yang diduga memiliki efek antijamur adalah alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa kimia bersifat basa nitrogen yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, secara umum alkaloid tidak berwarna dan berwarna apabila memiliki struktur kompleks dan bercincin aromatik. Alkaloid secara umum berfungsi dalam menaikkan tekanan darah, pemicu sistem saraf yang baik, antimikroba, analgesik, serta obat penenang (Simbala, 2009). Kadar toksisitas suatu alkaloid berbeda dengan alkaloid jenis yang lainnya. Contohnya adalah nikotin dalam tanaman tembakau memiliki dosis toksik sekitar 40-60 mg (1 mg/kg berat badan). Efek toksik ini sering terjadi pada perokok (Schneider dkk., 2008).

Alkaloid utama pada daun tembakau adalah nikotin. Konsentrasi nikotin dalam daun tembakau diperkirakan mencapai 6-8%. Nikotin merupakan metabolit sekunder dari ornitin (Ardwiantoro, 2010). Nikotin berfungsi menghambat pertumbuhan jamur. Hal ini berkaitan dengan fungsi nikotin dalam menghambat kerja enzim (Garatfini, 1990). Osmotin merupakan kandungan lain dalam daun tembakau yang diduga memiliki efek fungisidal terhadap beberapa jenis jamur patogen. Ibeas dkk. (1998) menyatakan bahwa osmotin merupakan suatu protein dalam tumbuhan yang berfungsi dalam pertahanan atau *protein related* (PR). Hasil penelitian yang dilakukan Ibeas dkk. (1998) juga menjelaskan bahwa osmotin efektif dalam membunuh *Saccharomices cerevisiae* hampir sebesar 50% dari populasi awalnya. Menurut Yun dkk. (1997), efek fungisidal osmotin tidak spesifik terhadap satu jenis jamur saja. Osmotin merupakan suatu jenis protein tertentu yang dimiliki tembakau dan berfungsi dalam melawan patogen dari luar dan mempertahankan tekanan osmotik tanaman itu sendiri. Osmotin ini memiliki fungsi dalam menghambat pembentukan dan pertumbuhan jamur pada tahap pembentukan spora. Osmotin

memiliki fungsi dalam melemahkan dinding sel jamur, mengganggu sintesis dinding sel jamur dan secara umum dapat menghambat pembentukan RNA pada saat sintesis protein pada jamur (Abad dkk., 1996). Kerusakan dinding sel jamur disebabkan karena adanya peningkatan permeabilitas dinding sel yang diakibatkan oleh osmotin. Osmotin meningkatkan porositas dinding sel jamur, sehingga matriks intraselulernya keluar dan menyebabkan sel jamur menjadi lisis (Yun dkk., 1997).

Kandungan lain dalam tembakau yang diduga berfungsi sebagai antijamur adalah senyawa golongan fenol, yaitu flavonoid. Flavonoid berfungsi dalam menghambat pembentukan spora jamur patogen. Menurut Obongoya dkk. (2010), flavonoid juga efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Flavonoid memiliki fungsi dalam merusak dinding sel jamur. 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 (Cushnie dan Lamb, 2005).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% pada hari ke-1 (24 jam) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan jamur *Candida albicans*, sedangkan ekstrak etanol daun tembakau yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100%. Ekstrak etanol daun tembakau yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada penelitian ini terdapat pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%, sedangkan ekstrak etanol daun tembakau yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan jamur *Candida albicans* pada penelitian ini terdapat pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%. Hal tersebut terjadi karena pada data pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan

jamur *Candida albicans* diameter zona hambat terbesar ekstrak etanol daun tembakau terdapat pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%, sedangkan pada bakteri *Streptococcus mutans* diameter zona hambat terbesar ekstrak etanol daun tembakau terdapat pada ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% meskipun ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% rata-ratanya tidak jauh berbeda dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% dan setelah diuji statistik perbedaannya juga tidak signifikan serta tidak sesuai dengan teori Pelezar dan Chan (1998) yang menyatakan bahwa aktivitas antimikroba akan semakin kuat seiring dengan semakin tingginya konsentrasi suatu bahan antimikroba. Hasil yang didapatkan pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* tersebut diduga dapat terjadi karena berbagai kekurangan dalam penelitian seperti ketidakteelitian dalam pengukuran atau penghitungan diameter zona hambat (Ningtyas, 2012).

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta memiliki daya antijamur terhadap jamur *Candida albicans*. Konsentrasi ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) konsentrasi 80%, sedangkan konsentrasi ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan sebagai antijamur terhadap jamur *Candida albicans* adalah ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) konsentrasi 100%.

### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penentuan senyawa bioaktif ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang memiliki aktifitas antibakteri dan antijamur paling optimum.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas ekstrak etanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat kumur.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abad, L. R., D' Urzo, M.P., Liu, D., Narasimhan, M.L, Reuveni, M., Zhu, K. J., Niu, X., Singh N. K., Hasegawa P. M., dan Bressan, R. A. 1996. Antifungal Activity of Tobacco Osmotin Has Specificity and Involves Plasma Membrane Permeabilization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 7082-7087.
- Akiyama, H., Kazuyasu, F., Osamu, Y., Takashi, O., dan Keiji, I. 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48: 487-491.
- Ardwiantoro, A. 2011. *Metabolit Sekunder*. Tidak diterbitkan. Makalah. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Arora, D., dan Arora, B. 2009. *Streptococcus, Text Book Of Microbiology for Dental Student*. Alkem Company: 170-178.
- Asmino dan Soedoko, R. 1987. Dampak Merokok terhadap Kesehatan dan Kehidupan.
- Bakht, J., Azra., dan Shafi, M. 2012. *Antimicrobial Activity of Nicotiana Tabacum Using Different Solvents Extracts*. Pakistan: Khyber Pukhtum Khwa Agricultural University.
- Bergey, D. H., dan Boone, D. R. 2009. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. New York: Springer.
- Beuchat, L.R. 1994. Antimicrobial Properties of Species and Theirs Essential Oils di dalam Naidu, A.S. 2000. *Natural Foods Antimicrobial Systems*. USA: CRC Press.
- Cahyono, B. 1998. *Tembakau, Budidaya dan Analisis Tani*. Yogyakarta: Kaninus.
- Cappucino, J. G., dan Sherman, N. 2005. *Microbiology: A Laboratory Mannual*. San Fransisco: Person Benjamin Cumming.
- Chandrashekar, R., dan Rao, S.N. 2012. Phytochemical Analysis of Ethanolic Extract of Leaves *Clerodendrum viscosum* (EELCV). *Word J Pharm and Pharm Sci*, 1 (3): 1092-1099.

- Choiroh, N. 2006. *Perbedaan Rebusan Daun Sirih (Piper betle Linn.) dengan Sodium Hipoklorit sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar dalam Menghambat Pertumbuhan Streptococcus viridans*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Chomnawang, M.T., Surassno, S., Nukoolkarn V.S., dan Gristanapan, W. 2005. Antimicrobial Effects of Thai Medicinal Plants Against Acneinducing Bacteria. *Jethnopharmacol*, 101: 330-333.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology*, 12: 564–82.
- Cushnie, T.P., dan Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343–345.
- Cutler, C.W., Chalmer, J.R., dan Genco, C.A. 1995. Pathogenic Strategies of the Oral Anaerob Porphyromonas gingivalis. *Trends Microbiol*, 3: 45–51.
- Dewi, F.K. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Dharmawati, I. 2011. *Efek Ekstrak Mengkudu dalam Menghambat Pertumbuhan Streptococcus mutans Penyebab Dental Plak Secara in Vitro*. Bali: Universitas Udayana.
- Duangstri, P., Juntarapun, K., dan Sathirapipathkul, C. 2012. *The Tobacco Leaf Extract and Antibacterial Activity In Textile*.
- Dwidjoseputro, D. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Elgayyar., Draughon., Golden., dan Mount. 2001. Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants Against Selected pathogenic and Saprophytic Microorganisms. *Journal of Food Protection*, 64 (7): 1019-1024.
- Farah, C.S., dan McIntosh, M.J. 2009. Mouthwash. *Australian Prescriber*, 31 (6): 162-164.
- Fathiazad, F., Delazar, A., Amiri, R., dan Sarker, S. D. 2005. Extraction of Flavonoids and Quantification of Rutin from waste Tobacco Leaves. *Iranian Journal of Pharmaceutical*, 3: 222-227.

- Federer, W. 1991. *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker.
- Frobisher dan Fuerst's. 1983. *Microbiology in Health and Disease*. 15th edition. Igaku Shoin. Saunders International Edition.
- Garatfini, S. 1990. *Short-term Toxicity Tests for Non-genotoxic Effects*. John Wiley dan Sons: 103.
- Gupta, H.K., Garg, A., dan Bedi, N.J. 2011. Peri-Implantitis: A Risk Factor in Implant Failure. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 5 (1): 38-141.
- Handayani, R., dan Joko, S. 2008. Sintesis Senyawa Flavonoid- $\alpha$ -Glikosida Secara Reaksi Transglikosilasi Enzimatis dan Aktivasinya Sebagai Antioksidan. *Biodiversitas*, 9 (1): 1-4.
- Hendrawati, D.Y., 2007. *Candida albicans*. <http://mikrobia.files.wordpress.com/200805-yosephine-dian-hendrawati-078114110.pdf>. [diakses 14 februari 2015].
- <http://Kasturi.radia.blogspot.com/> [diakses 3 Oktober 2014].
- <http://Litbang.jember.wordpress.com/2012/10/10/morfologi-tanaman-tembakau/> [diakses 7 Oktober 2014].
- <http://www.optimalhealthnetwork.com/candida-albicans-S1202.htm> [diakses 7 Oktober 2014].
- Ibeas, J. I., Dae-Jin., Hyeseung L., Maria, A. C., Meena L. N., Yukifumi U., Paul, M. H., Jose', M. P., dan Ray, A. B. 1998. *Osmotin, a Plant Antifungal Protein, Subverts Signal Transduction to Enhance Fungal Cell Susceptibility* *Molecular Cell*, 1: 807-817.
- Jawetz, E. 1991. *Medical Microbiology*. Edisi 19. San Mateo, California: Appleton and Lange.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw-Hill Companies: 327-329.
- Jawetz, G., Melnick, L.L., dan Adelberg, E.A. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 16. Diterjemahkan oleh dr. Bonang, G. Jakarta: EGC Press.

- Jupriadi, L. 2011. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Waru (Hibicustilaceus L.) terhadap Jamur Malassezia furfur*. SKRIPSI. Malang: Program Studi Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- Kusumawardani, B. 2012. *Dampak Infeksi Porphyromonas gingivalis pada Jaringan Periodontal Maternal terhadap Pertumbuhan Janin*. Disertasi. Jogjakarta: Fakultas Kedokteran UGM.
- Lamont, R. J., dan Jenkinson, H.S. 2010. *Oral Microbiology at A Glance*. Singapore: Willey-Blackwell: 30-39.
- Leslie, C. 1998. *Topley Wilson's Microbiology and Microbial Infection*. Systematic bacteriology 9th ed. New York: Oxford University Press.
- Machado, P.A., Fu, H., Kratochivl R.J., Yuan, Y., Hahm, T.S., Sabliov, C.M., Wei, C.I., dan Lo, Y.M. 2010. Recovery of Solanesol from Tobacco as a Value Added by Product for Alternative Applications. *Journal Bioresources Technology*, 101: 1091-1096.
- Majidah, D., Fatmawati, D.W.A., dan Gunadi, A. 2014. *Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (Apium graveolens L.) terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans sebagai Alternatif Obat Kumur*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Middleton, E., dan Chitan, K. 1994. The Impact of Plant Flavonoids on Mammalian Biology: Implication for immunity, Inflammation and Cancer di dalam Harborne, J.B. *The Flavonoids*. London: Chapman and Hall.
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R.N., dan Calder, P.C. 1997. Antimicrobial Action of Propolis and Some of its Components: the Effects on Growth, Membrane Potential, and Motility of Bacteria. *Microbiol Res*, 152: 239-46.
- Naidu, A.S. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. USA: CRC Press.
- Nareswari, A. 2010. *Perbedaan Efektifitas Obat Kumur Chlorhexidine Beralkohol Dibandingkan dengan Chlorhexidine Beralkohol dalam Menurunkan Kuantitas Koloni Bakteri Rongga Mulut*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Nazir. 2005. *Metode Penelitian*. Jakarta: Ghalia Indonesia.

- Ningtyas, T. E. 2012. *Inhibisi ekstrak daun Beluntas Pluchea indica (L.) Less terhadap Indeks Adhesi Streptococcus mutans pada Neutrofil*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Noril, Y., Ozaki, K., Nakae, H., Matsuo, T., dan Ebisu, S. 1997. Immunohistochemistry Experimental Study of Localized Porphyromonas Gingivalis, Campylobacter Rectus, and Visicus actinomyces in Periodontal Pocket. *Journal Periodontol*, 32: 598-607.
- Nychas, G.J.E., dan Tassou, C.C. 2000. Traditional preservatives-Oils and Spices di dalam Robinson, R.K., C.A. Batt, P.D. Patel. Ed. *Encyclopedia of food*.
- Obongoya, B.O., Wagai, S.O., dan Odhiambo, G. 2010. Phytotoxic Effect of Selected Crude Plant Extracts on Soil-Borne Fungi of Common Bean. *African Crop Sci. Journal*: 18 (1): 15–22.
- Odugbemi, T. 2006. *Medicinal Plants as Antimicrobials In: Outlines and Pictures of Medicinal plants from Nigeria*. University of Logos press: 53-64.
- Palic, R., Stojanovic, G., Alagic, S., Nikolic, M., dan Lepojevic, Z. 2002. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oil and CO2 Extracts of Semi-orientl Tobacco, Prilep. *Flavour Fragr Journal*, 17: 323-326.
- Pang, F., Sheng, L., Liu, B., Tong, H., dan Liu, S. 2004. Comparison of Different Extraction Methods: Steam Distillation, Simlutaneous Distillation and Extraction and Headspace Co-distillation, Used for the Analysis of the Volatile Components in Aged Flue Cured Tobacco Leaves. *Journal Chromatogr*, 1040: 1-17.
- Parwata, I.M.O.A. dan Dewi, P.F.S. 2008. Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia Galanga L.*). *Jurnal Kimia*, 2 (2): 100-4.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Pepeljnjak, S., Jalenjak, I., dan Maysinger, D. 1985. Flavonoid Content in Propolis Extracts and Growth Inhibition of Bacillus Subtilis. *Pharmazie*, 40:122-3.
- Podlejski, J., dan Olejniczak, W. 1983. *Methods and Techniques in Research of Tobacco Flavour*. *Nahrung*, 27 (5): 429-436.

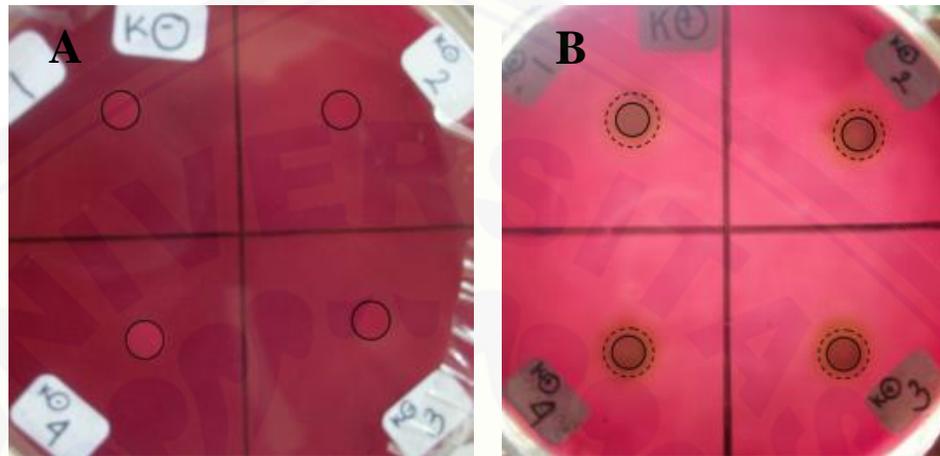
- Regina, R. A. 2007. The Effect of Mouthwash Containing Cetylpyridinium Chloride on Salivary Level of *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI*, 57 (1): 19-24.
- Roeslan, B.O. Metabolisme Karbohidrat oleh *Streptococcus mutans*: Pembentukan Plak dan Terjadinya Karies Gigi. *Jurnal PDGI* (4): 8-12.
- Rohaya., Syarifah., Hariwati., Retno., Lely., Sujuti., dan Hidayat. 2014. *Efek Pemberian Ekstrak Kulit Jeruk Keprok (Citrus Reticulata) terhadap Cell-Cycle G1 Arrest dan Apoptosis pada Sel Kultur Retinoblastoma*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Rusli, M. S., Suryani., dan Puspita, P. E. 2011. *Antibacterial Activity of Temanggung Tobacco Extract Variety Genjah Kemloko*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Samaranayake, L. P. 2002. *Essential Microbiology For Dentistry*. W.B. Saunders Company: Philadelphia: 175, 217-223, 425-426, 719-720.
- Santoso dan Imam. 1994. *Infertility dalam Deteksi dan Patogenesis*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Schneider, S., Diederich, N., Appenzeller, B., Schartz, Lorang, C. dan Wennig, R. 2008. Internet Suicide Guidelines: *Report of A Life Threatening Poisoning Using Tobacco Extract*, (3): 134-136.
- Sholeh, M., Rachman, A., dan Machfudz. 2000. Pengaruh Komposisi Pupuk Ks, Za, dan Urea, Serta Dosis N terhadap Mutu Tembakau Besuki. *Jurnal Littri*, 6 (3): 80-87.
- Silverman, S., Migliorati, C.A., Epstein, J.B. dan Samaranayake, L.P. 2001. *Laboratory Diagnosis of Oral Candidosis*.
- Simatupang, M.M. 2009. *Candida albicans*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU.
- Simbala, H. E. I. 2009. Analisis Senyawa Alkaloid Beberapa Jenis Tumbuhan Obat Sebagai Bahan Aktif Fitosfarmaka. *Pacific Journal*, 1 (4): 489-494.
- Simon, L. 2007. *The Role of Streptococcus mutans and Oral Ecology in Formation of Dental Caries*.

- Stevens, D. L., dan Kaplan, E. L. 2000. *Streptococcal Infections: Clinical Aspects, Microbiology, and Molecular Pathogenesis*. New York: Oxford University Press.
- Sudaryono. 2004. Rekayasa Lingkungan dengan Naungan Tertutup untuk Perbaikan Kualitas dan Produktivitas Tembakau Rakyat di Sleman, Jogjakarta. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 5 (2): 122-127.
- Sukanto, Pradopo, S., dan Yulianti, A. 2002. Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Delima Putih terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Majalah Kedokteran Gigi. Dental Journal*, (3): 35.
- Suresh, K., Saravana, S., dan Harisaranraj, R. 2008. Studies on In Vitro Antimicrobial Activity of Ethanol Extract of *Rauvolfia tetraphylla*. *Ethnobot Leaflets*, 12: 586-90.
- Susilowati, E. Y. 2006. *Identifikasi Nikotin dari Daun Tembakau (Nicotiana tabacum) Kering dan Uji Efektifitas Ekstrak Daun Tembakau sebagai Insektisida Penggerak Batang Padi (Scirpophaga Innonata)*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Taiga, A., dan Friday, E. 2009. Variations in Phytochemical Properties of Selected Fungicidal Aqueous Extracts of Some Plant Leaves in Kogi State, Nigeria. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3 (3): 407-409.
- Tirtosastro, S., dan Murdiyati, A.S. 2010. *Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok*. Malang: Universitas Tribuana Tunggaldewi.
- Tjampakasari, C.R. 2006. *Karakteristik Candida albicans*. [on line]. <http://www.optimalhealthnetwork.com/Candida-Albicans-s/202.htm>. [15 September 2014]
- Tso, T.C. 1999. *Seed to Smoke. Tobacco: Production, Chemistry, and Technology*. D.L. Davis and M.T. Nielsen eds. Nlackwell: 1-31.
- Wax, G.R., Lewis, K., Salyer, A.A., dan Taber, H. 2008. *Bacterial Resistance to Antimicrobials Second Edition*. New Yrk: CRC Press.
- Witarto. 2008. *Meracik Obat dari Daun Tembakau*. <http://witarto.wordpress.com>. [diakses 22 maret 2015].
- Xin, Z., Jinren, N., Wen, H. 2006. *Extraction of Solanesol from Tobacco with Supercritical Carbon Dioxide*, 23: 480-501.

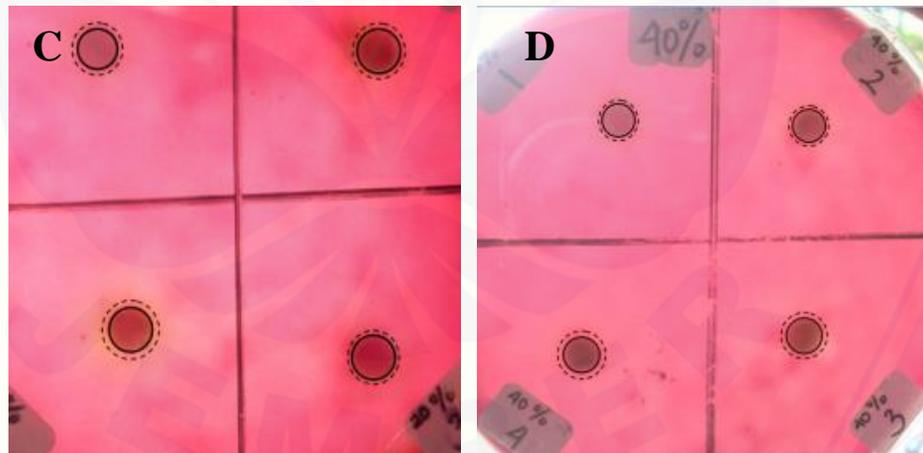
Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, O.F., dan Bilaloglu, V. 2000. Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tilia (*Tilia argentea desf ex dc*), sage (*Salvia triloba L.*) and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *Journal Agric & Food Chemist*, 48: 5030-5034.

Yun, D.J, Zhao, Y., Pardo, J. M., Narasimhan, M. L., Damz, B., Lee, H., Abad, L. R., D'Urzo, M. P., Hasegawa, P. M., dan Bressan, R. A. 1997. *Stress Proteins On The Yeast Cell Surface Determine Resistance To Osmotin, A Plant Antifungal Protein*, 94: 7082–7087.

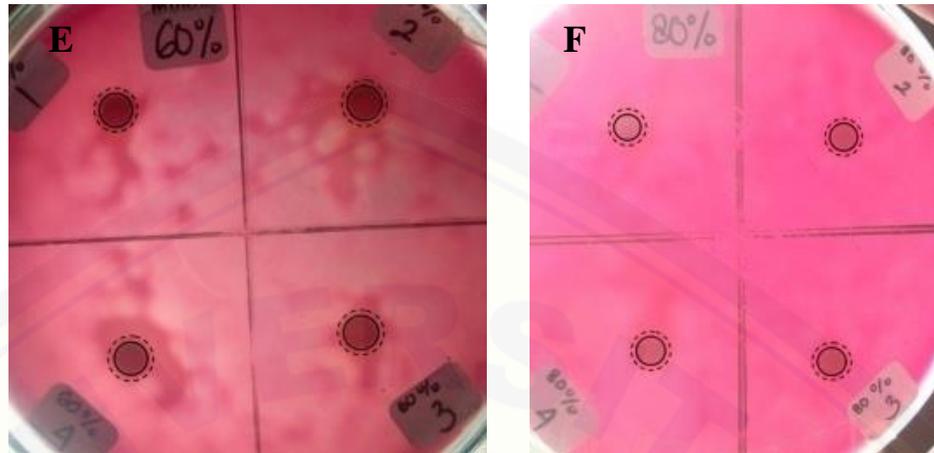


**Lampiran A. Foto Hasil Penelitian**

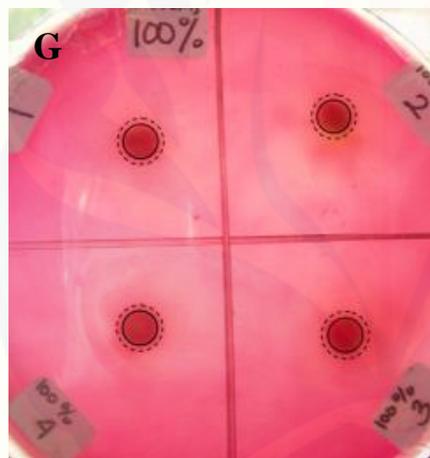
Gambar A.1 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (A) Kontrol negatif DMSO 1%; (B) Kontrol positif *Chlorhexidine gluconate* 0,2%.



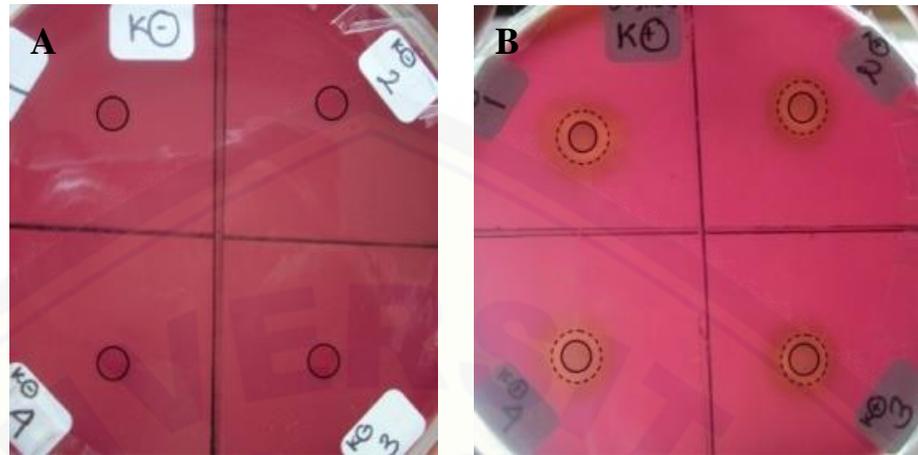
Gambar A.2 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (C) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%; (D) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%;



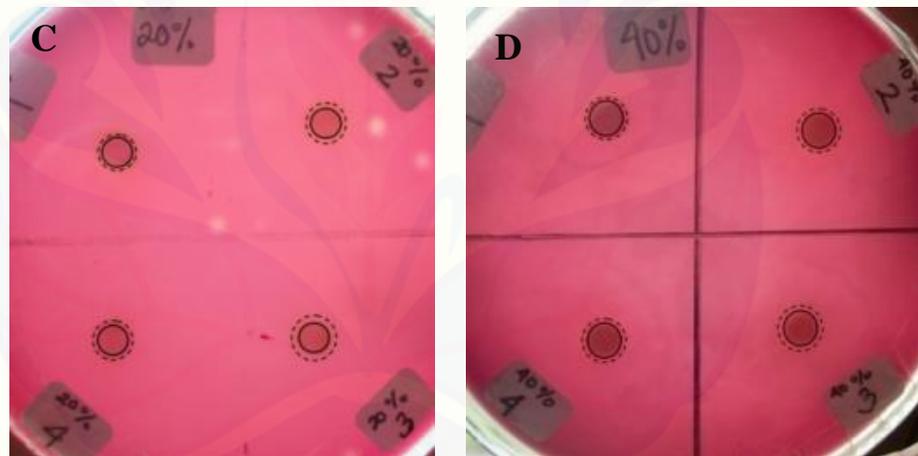
Gambar A.3 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (E) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%; (F) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%.



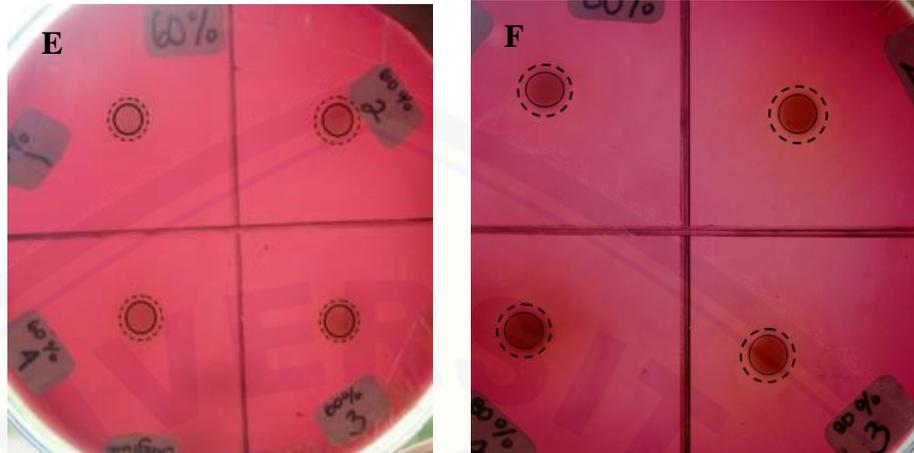
Gambar A.4 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (G) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%.



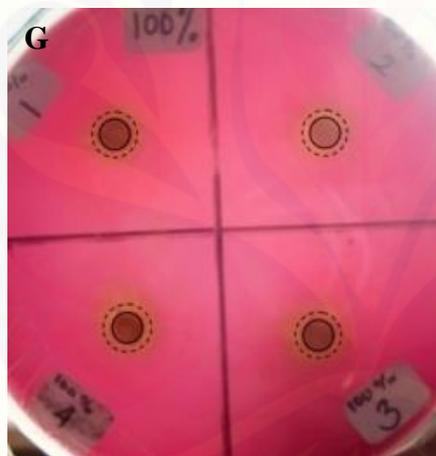
Gambar A.5 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (A) Kontrol negatif DMSO 1%; (B) Kontrol positif *Chlorhexidine gluconate* 0,2%.



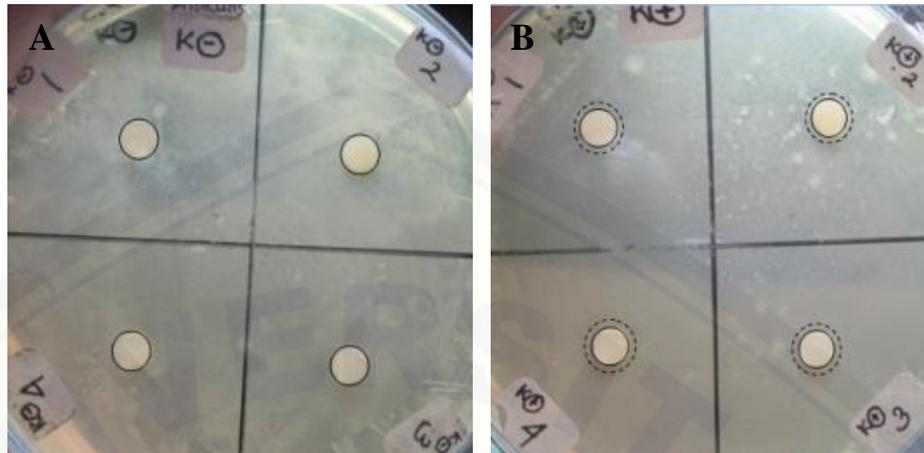
Gambar A.6 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (C) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%; (D) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%.



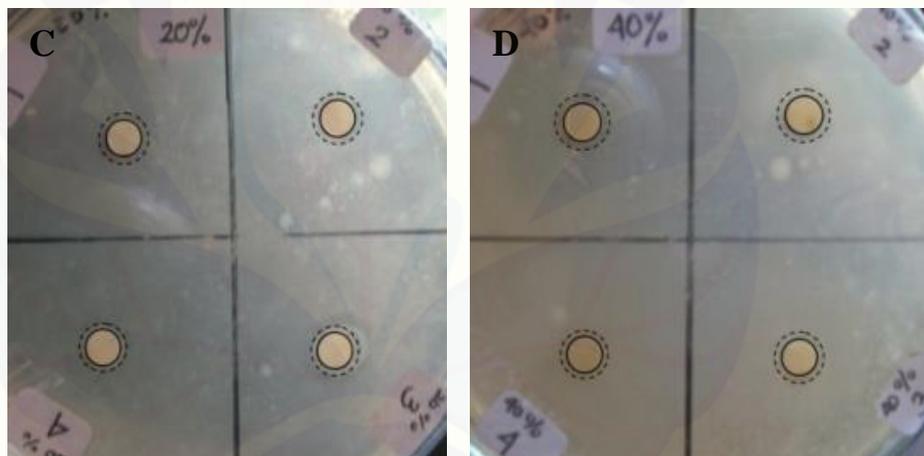
Gambar A.7 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (E) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%; (F) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%.



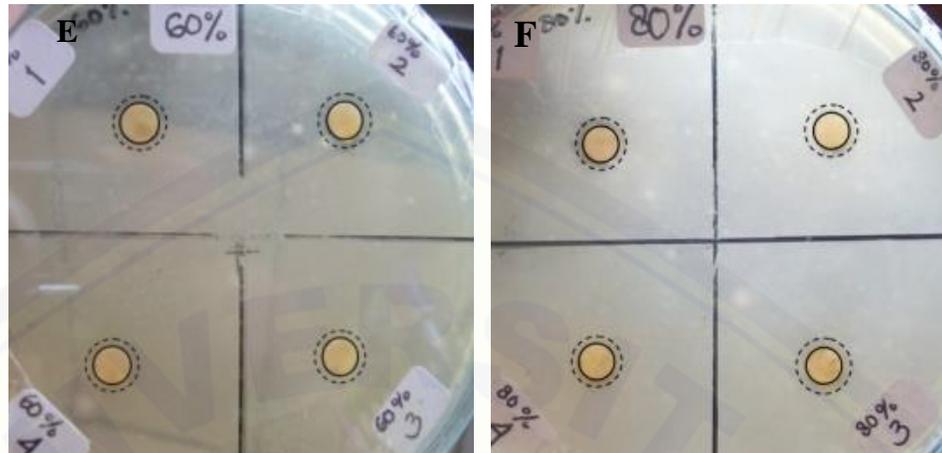
Gambar A.8 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (G) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%.



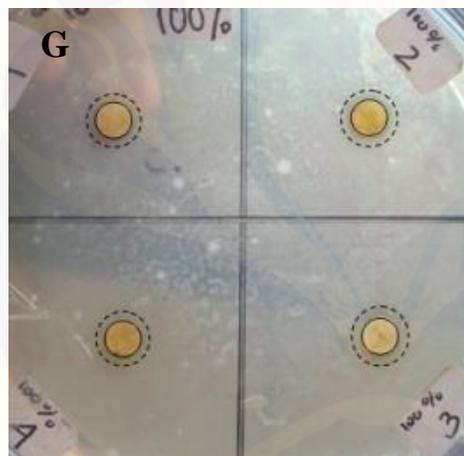
Gambar A.9 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (A) Kontrol negatif DMSO 1%; (B) Kontrol positif *Chlorhexidine gluconate* 0,2%.



Gambar A.10 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (C) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%; (D) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%.



Gambar A.11 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (E) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%; (F) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%.



Gambar A.12 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun tembakau terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan 4 kali ulangan pada hari ke-1 (G) Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%.

**Lampiran B. Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk**1. Data hari ke-1 bakteri *Streptococcus mutans***Tests of Normality<sup>b</sup>**

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona	Chlorhexidine gluconate 0,2%	.243	4	.	.896	4	.410
Hambat_S. mutans	Ekstrak Tembakau 20%	.316	4	.	.825	4	.156
	Ekstrak Tembakau 40%	.215	4	.	.941	4	.661
	Ekstrak Tembakau 60%	.230	4	.	.939	4	.647
	Ekstrak Tembakau 80%	.250	4	.	.958	4	.769
	Ekstrak Tembakau 100%	.171	4	.	.994	4	.976

2. Data hari ke-1 bakteri *Porphyromonas gingivalis***Tests of Normality<sup>b</sup>**

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona	Chlorhexidine gluconate 0,2%	.266	4	.	.928	4	.583
Hambat_P.gi ngivalis	Ekstrak Tembakau 20%	.193	4	.	.990	4	.957
	Ekstrak Tembakau 40%	.381	4	.	.803	4	.108
	Ekstrak Tembakau 60%	.166	4	.	.997	4	.990
	Ekstrak Tembakau 80%	.276	4	.	.890	4	.383
	Ekstrak Tembakau 100%	.271	4	.	.903	4	.445

3. Data hari ke-1 jamur *Candida albicans*Tests of Normality<sup>b</sup>

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	Chlorhexidine gluconate	.283	4	.	.877	4	.325
Zona	0,2%						
Hambat_C	Ekstrak Tembakau 20%	.284	4	.	.874	4	.314
.albicans	Ekstrak Tembakau 40%	.250	4	.	.878	4	.329
	Ekstrak Tembakau 60%	.236	4	.	.911	4	.488
	Ekstrak Tembakau 80%	.281	4	.	.894	4	.404
	Ekstrak Tembakau 100%	.221	4	.	.939	4	.651

**Lampiran C. Hasil Uji Homogenitas *Levene-Statistic***

1. Data hari ke-1 bakteri *Streptococcus mutans*

**Test of Homogeneity of Variances**Diameter Zona Hambat\_ *S.mutans*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.217	6	21	.006

2. Data hari ke-1 bakteri *Porphyromonas gingivalis*

**Test of Homogeneity of Variances**Diameter Zona Hambat\_ *P.gingivalis*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.418	6	21	.254

3. Data hari ke-1 jamur *Candida albicans*

**Test of Homogeneity of Variances**Diameter Zona Hambat\_ *C.albicans*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
12.617	6	21	.000

**Lampiran D. Hasil Uji *Kruskal Wallis***

1. Data hari ke-1 bakteri *Streptococcus mutans*

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_ <i>S.mutans</i>
Chi-Square	25.038
Df	6
Asymp. Sig.	.000

2. Data hari ke-1 jamur *Candida albicans*

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_ <i>C.albicans</i>
Chi-Square	25.394
Df	6
Asymp. Sig.	.000

**Lampiran E. Hasil Uji *Maan Whitney***1. Data hari ke-1 bakteri *Streptococcus mutans*a. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan DMSO 1%**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_ <i>S.mutans</i>
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

b. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_ <i>S.mutans</i>
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

c. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_ <i>S.mutans</i>
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- d. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- e. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- f. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- g. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- h. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- i. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- j. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- k. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

1. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan 40%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

- m. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan 60%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 <sup>a</sup>

- n. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan 80%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- o. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- p. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dengan 60%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 <sup>a</sup>

- q. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dengan 80%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- r. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dengan 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- s. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% dengan 80%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- t. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% dengan 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- u. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dengan 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_S.mutans
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	15.500
Z	-.726
Asymp. Sig. (2-tailed)	.468
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 <sup>a</sup>

2. Data hari ke-1 jamur *Candida albicans*

- a. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan DMSO 1%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- b. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- c. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- d. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- e. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- f. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 <sup>a</sup>

- g. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- h. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- i. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60%

Test Statistics<sup>b</sup>

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- j. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- k. DMSO 1% dengan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- l. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan 40%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	15.500
Z	-.726
Asymp. Sig. (2-tailed)	.468
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 <sup>a</sup>

- m. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan 60%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- n. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan 80%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- o. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dengan 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- p. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dengan 60%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- q. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dengan 80%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- r. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dengan 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- s. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% dengan 80%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- t. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% dengan 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- u. Ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dengan 100%

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Diameter Zona Hambat_C.albicans
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 <sup>a</sup>

**Lampiran F. Hasil Uji *One Way* ANOVA**1. Data hari ke-1 bakteri *Porphyromonas gingivalis***ANOVA**

Diameter Zona Hambat\_P.gingivalis

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.741	6	5.624	64.656	.000
Within Groups	1.826	21	.087		
Total	35.568	27			

## Lampiran G. Hasil Uji LSD

1. Data hari ke-1 bakteri *Porphyromonas gingivalis*

## Multiple Comparisons

Diameter Zona Hambat *P.gingivalis*

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Chlorhexidine gluconate 0,2%	DMSO 1%	3.52250*	.20854	.000	3.0888	3.9562
	Ekstrak Tembakau 20%	2.70500*	.20854	.000	2.2713	3.1387
	Ekstrak Tembakau 40%	2.04250*	.20854	.000	1.6088	2.4762
	Ekstrak Tembakau 60%	1.21000*	.20854	.000	.7763	1.6437
	Ekstrak Tembakau 80%	1.09000*	.20854	.000	.6563	1.5237
	Ekstrak Tembakau 100%	.99250*	.20854	.000	.5588	1.4262
DMSO 1%	Chlorhexidine gluconate 0,2%	-3.52250*	.20854	.000	-3.9562	-3.0888
	Ekstrak Tembakau 20%	-.81750*	.20854	.001	-1.2512	-.3838
	Ekstrak Tembakau 40%	-1.48000*	.20854	.000	-1.9137	-1.0463
	Ekstrak Tembakau 60%	-2.31250*	.20854	.000	-2.7462	-1.8788
	Ekstrak Tembakau 80%	-2.43250*	.20854	.000	-2.8662	-1.9988
	Ekstrak Tembakau 100%	-2.53000*	.20854	.000	-2.9637	-2.0963
Ekstrak Tembakau 20%	Chlorhexidine gluconate 0,2%	-2.70500*	.20854	.000	-3.1387	-2.2713
	DMSO 1%	.81750*	.20854	.001	.3838	1.2512
	Ekstrak Tembakau 40%	-.66250*	.20854	.005	-1.0962	-.2288
	Ekstrak Tembakau 60%	-1.49500*	.20854	.000	-1.9287	-1.0613
	Ekstrak Tembakau 80%	-1.61500*	.20854	.000	-2.0487	-1.1813
	Ekstrak Tembakau 100%	-1.71250*	.20854	.000	-2.1462	-1.2788

Ekstrak Tembakau 40%	Chlorhexidine gluconate 0,2%	-2.04250*	.20854	.000	-2.4762	-1.6088
	DMSO 1%	1.48000*	.20854	.000	1.0463	1.9137
	Ekstrak Tembakau 20%	.66250*	.20854	.005	.2288	1.0962
	Ekstrak Tembakau 60%	-.83250*	.20854	.001	-1.2662	-.3988
	Ekstrak Tembakau 80%	-.95250*	.20854	.000	-1.3862	-.5188
	Ekstrak Tembakau 100%	-1.05000*	.20854	.000	-1.4837	-.6163
Ekstrak Tembakau 60%	Chlorhexidine gluconate 0,2%	-1.21000*	.20854	.000	-1.6437	-.7763
	DMSO 1%	2.31250*	.20854	.000	1.8788	2.7462
	Ekstrak Tembakau 20%	1.49500*	.20854	.000	1.0613	1.9287
	Ekstrak Tembakau 40%	.83250*	.20854	.001	.3988	1.2662
	Ekstrak Tembakau 80%	-.12000	.20854	.571	-.5537	.3137
	Ekstrak Tembakau 100%	-.21750	.20854	.309	-.6512	.2162
Ekstrak Tembakau 80%	Chlorhexidine gluconate 0,2%	-1.09000*	.20854	.000	-1.5237	-.6563
	DMSO 1%	2.43250*	.20854	.000	1.9988	2.8662
	Ekstrak Tembakau 20%	1.61500*	.20854	.000	1.1813	2.0487
	Ekstrak Tembakau 40%	.95250*	.20854	.000	.5188	1.3862
	Ekstrak Tembakau 60%	.12000	.20854	.571	-.3137	.5537
	Ekstrak Tembakau 100%	-.09750	.20854	.645	-.5312	.3362
Ekstrak Tembakau 100%	Chlorhexidine gluconate 0,2%	-.99250*	.20854	.000	-1.4262	-.5588
	DMSO 1%	2.53000*	.20854	.000	2.0963	2.9637
	Ekstrak Tembakau 20%	1.71250*	.20854	.000	1.2788	2.1462
	Ekstrak Tembakau 40%	1.05000*	.20854	.000	.6163	1.4837
	Ekstrak Tembakau 60%	.21750	.20854	.309	-.2162	.6512
	Ekstrak Tembakau 80%	.09750	.20854	.645	-.3362	.5312

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Lampiran H. Data Hasil Penelitian

Tabel H.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat (skala mm) dan rata-rata pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* hari ke-1

Kelompok	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Kontrol +	8,20	8,01	7,84	7,85	8,20	7,98	7,82	7,86	8,19	7,99	7,83	7,86
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	6,09	6,04	6,04	6,24	6,03	6,08	6,05	6,28	6,18	6,06	6,04	6,28
[40%]	6,01	6,08	6,19	6,24	6,04	6,07	6,17	6,21	6,03	6,10	6,20	6,27
[60%]	6,12	6,26	6,61	7,04	6,15	6,25	6,59	7,03	6,11	6,26	6,62	7,04
[80%]	7,65	7,43	7,41	7,16	7,66	7,45	7,40	7,16	7,65	7,40	7,42	7,14
[100%]	7,29	7,36	7,47	7,38	7,31	7,38	7,45	7,37	7,28	7,37	7,45	7,37

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat				Rata-rata Total Diameter Zona Hambat Kelompok Perlakuan
	1	2	3	4	
Kontrol +	8,20	7,99	7,83	7,86	7,97
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	6,10	6,06	6,04	6,27	6,12
[40%]	6,03	6,08	6,19	6,24	6,14
[60%]	6,13	6,26	6,61	7,04	6,51
[80%]	7,65	7,43	7,41	7,15	7,41
[100%]	7,29	7,37	7,46	7,37	7,37

Tabel H.2 Hasil pengukuran diameter zona hambat (skala mm) pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* hari ke-2

Kelompok	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Kontrol +	7,26	6,95	7,00	7,04	7,26	6,97	7,02	7,04	7,26	6,97	7,00	7,04
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[40%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[60%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[80%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[100%]	6,48	5,00	6,45	5,00	6,48	5,00	6,45	5,00	6,48	5,00	6,47	5,00

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat				Rata-rata Total Diameter Zona Hambat Kelompok Perlakuan
	1	2	3	4	
Kontrol +	7,26	6,96	7,01	7,04	7,07
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[40%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[60%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[80%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[100%]	6,48	5,00	6,46	5,00	5,74

Tabel H.3 Hasil pengukuran diameter zona hambat (skala mm) dan rata-rata pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* hari ke-1

Kelompok	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Kontrol +	8,93	8,69	7,91	8,53	8,93	8,70	7,90	8,54	8,95	8,70	7,91	8,54
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	5,55	5,76	6,10	5,85	5,54	5,78	6,09	5,85	5,57	5,76	6,12	5,84
[40%]	6,13	6,43	6,82	6,56	6,14	6,42	6,81	6,55	6,13	6,40	6,81	6,56
[60%]	7,21	7,76	7,07	7,22	7,23	7,77	7,06	7,22	7,20	7,76	7,07	7,20
[80%]	7,18	7,33	7,62	7,60	7,18	7,33	7,63	7,61	7,16	7,34	7,64	7,60
[100%]	7,21	7,35	7,51	8,07	7,20	7,37	7,52	8,06	7,19	7,33	7,51	8,06

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat				Rata-rata Total Diameter Zona Hambat
	1	2	3	4	Kelompok Kontrol
Kontrol +	8,94	8,70	7,91	8,54	8,52
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	5,55	5,77	6,10	5,85	5,82
[40%]	6,13	6,42	6,81	6,56	6,48
[60%]	7,21	7,76	7,07	7,21	7,31
[80%]	7,17	7,33	7,63	7,60	7,43
[100%]	7,20	7,35	7,51	8,06	7,53

Tabel H.4 Hasil pengukuran diameter zona hambat (skala mm) dan rata-rata pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* hari ke-2

Kelompok	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Kontrol +	7,01	7,27	7,16	7,05	7,01	7,27	7,16	7,05	7,02	7,27	7,17	7,05
Kontrol -	5,01	5,00	5,00	5,00	5,01	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[40%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[60%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[80%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[100%]	6,60	6,32	6,34	6,50	6,60	6,32	6,35	6,51	6,60	6,33	6,35	6,51

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat				Rata-rata Total Diameter Zona Hambat
	1	2	3	4	Kelompok Perlakuan
Kontrol +	7,01	7,27	7,16	7,05	7,12
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[40%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[60%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[80%]	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[100%]	6,60	6,32	6,35	6,51	6,45

Tabel H.5 Hasil pengukuran diameter zona hambat (skala mm) dan rata-rata pertumbuhan jamur *Candida albicans* hari ke-1

Kelompok	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Kontrol +</b>	8,03	7,46	8,07	7,65	8,04	7,45	8,06	7,65	8,03	7,46	8,06	7,66
<b>Kontrol -</b>	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	6,72	6,73	6,41	6,17	6,70	6,73	6,42	6,18	6,73	6,71	6,41	6,17
[40%]	6,73	6,72	6,64	6,51	6,73	6,71	6,65	6,53	6,73	6,71	6,67	6,50
[60%]	6,84	6,92	6,89	6,82	6,83	6,91	6,89	6,82	6,83	6,91	6,89	6,81
[80%]	7,07	7,12	7,29	7,02	7,06	7,12	7,25	7,00	7,07	7,11	7,31	7,02
[100%]	7,07	7,32	8,15	7,88	7,07	7,31	8,16	7,87	7,06	7,31	8,15	7,89

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat				Rata-rata Total Diameter Zona Hambat Kelompok Perlakuan
	1	2	3	4	
<b>Kontrol +</b>	8,03	7,45	8,06	7,65	7,80
<b>Kontrol -</b>	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	6,71	6,72	6,41	6,17	6,50
[40%]	6,73	6,71	6,65	6,51	6,65
[60%]	6,83	6,91	6,89	6,81	6,86
[80%]	7,06	7,11	7,30	7,01	7,12
[100%]	7,07	7,31	8,15	7,88	7,60

Tabel H.6 Hasil pengukuran diameter zona hambat (skala mm) dan rata-rata pertumbuhan jamur *Candida albicans* hari ke-2

Kelompok	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Kontrol +</b>	7,03	6,87	7,19	7,58	7,03	6,88	7,20	7,58	7,01	6,86	7,20	7,58
<b>Kontrol -</b>	5,01	5,00	5,00	5,00	5,01	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	5,86	5,88	6,06	6,00	5,86	6,07	6,06	6,02	5,86	6,06	6,05	6,01
[40%]	6,11	6,14	5,87	6,03	6,11	6,14	5,84	6,03	6,11	6,13	5,85	6,04
[60%]	6,22	6,03	6,01	6,02	6,22	6,03	6,02	6,02	6,21	6,03	6,02	6,02
[80%]	6,30	6,24	6,23	6,23	6,31	6,24	6,23	6,23	6,32	6,25	6,22	6,21
[100%]	6,83	6,75	6,44	6,41	6,83	6,76	6,45	6,43	6,83	6,77	6,45	6,43

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat				Rata-rata Total Diameter Zona Hambat Kelompok Perlakuan
	1	2	3	4	
<b>Kontrol +</b>	7,02	6,87	7,20	7,58	7,17
<b>Kontrol -</b>	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
[20%]	5,86	6,00	6,06	6,01	5,98
[40%]	6,11	6,13	5,85	6,03	6,03
[60%]	6,22	6,03	6,02	6,02	6,07
[80%]	6,31	6,24	6,23	6,22	6,25
[100%]	6,83	6,76	6,45	6,42	6,62

## Lampiran I. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar I.1 Alat Penelitian (A) Blender; (B) Toples kaca; (C) *Thermolyne*; (D) Jangka sorong digital; (E) Ose; (F) Pinset; (G) Mikropipet ; (H) *Water bath*; (I) *Rotary evaporator*; (J) Desikator; (K) Oven; (L) *Autoclave*; (M) *Laminar flow*; (N) Tabung reaksi; (O) Spektrofotometer; (P) *Petridish* tidak bersekat; (Q) Gelas ukur; (R) Neraca; (S) Gigaskrin; (T) Tabung *Erlenmeyer* (U) *Two Hole Punch*; (V) Inkubator.



Gambar I.2 Bahan Penelitian (A) Daun tembakau; (B) Ekstrak etanol daun tembakau; (C) *Chlorhexidine gluconate* 0,2%; (D) DMSO 100%; (E) Aquadest steril; (F) Media kultur TSA dengan 5% *sheep blood*; (G) Media kultur SDA; (H) Spidol dan kertas label; (I) Kertas saring Whatmann No. 42; (J) Kertas cakram; (K) Kertas saring kimia; (L) Masker dan sarung tangan.

### Lampiran J. Proses Ekstraksi Daun Tembakau Menggunakan Etanol 96% dengan Metode Maserasi



Gambar J.1 Daun tembakau segar yang telah dicuci bersih dikeringkan dengan cara kering angin selama satu minggu pada suhu kamar, kemudian dihaluskan menggunakan blender.



Gambar J.2 Daun tembakau yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 250 gr kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca dan direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 1.875 mL. Setelah itu, rendaman diaduk menggunakan spatula dan toples kaca ditutup rapat. Rendaman didiamkan selama 3x24 jam, tetapi tetap dilakukan pengadukan setiap harinya menggunakan spatula.



Gambar J.3 Ampas dan filtrat rendaman dipisahkan menggunakan kertas saring kimia sampai diperoleh ekstrak cair daun tembakau, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50° C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dituang dalam cawan porselen dan diuapkan lagi menggunakan water bath kemudian diangin-anginkan pada suhu kamar dan akhirnya proses ekstraksi selesai.

**Lampiran K. Pembuatan Kontrol Negatif DMSO 1%**

Larutan DMSO 1% dibuat dengan menambahkan DMSO 100% dengan aquadest steril berdasarkan perhitungan berikut ini :

- a. Volume DMSO 100% yang dibutuhkan

$$V1. M1 = V2.M2$$

$$V1 = \frac{V2.M2}{100}$$

$$= \frac{50.1}{100}$$

$$= 0,5 \text{ mL}$$

- b. Volume aquadest steril yang dibutuhkan

$$= V2 - V1$$

$$= 50 \text{ mL} - 0,5 \text{ mL}$$

$$= 49,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 50 mL DMSO 1% dibutuhkan larutan DMSO 100% sebanyak 0,5 mL dan 49,5 mL aquadest steril.

**Lampiran L. Pengenceran Ekstrsk Etanol Daun Tembakau**

Pengenceran ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dilakukan berdasarkan perhitungan berikut ini :

- a. Volume ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% yang dibutuhkan

$$\begin{aligned}V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\V_1 &= \frac{V_2.M_2}{V_1} \\ &= \frac{5.20}{100} \\ &= 1 \text{ mL}\end{aligned}$$

- b. Volume DMSO 1% yang dibutuhkan

$$\begin{aligned}&= V_2 - V_1 \\ &= 5 \text{ mL} - 1 \text{ mL} \\ &= 4 \text{ mL}\end{aligned}$$

Jadi, untuk mendapatkan 5 mL ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 20% dibutuhkan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% sebanyak 1 mL dan 4 mL DMSO 1%.

Pengenceran ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dilakukan berdasarkan perhitungan berikut ini :

- a. Volume ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% yang dibutuhkan

$$\begin{aligned}V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\V_1 &= \frac{V_2.M_2}{V_1} \\ &= \frac{5.40}{100} \\ &= 2 \text{ mL}\end{aligned}$$

b. Volume DMSO 1% yang dibutuhkan

$$\begin{aligned} &= V_2 - V_1 \\ &= 5 \text{ mL} - 2 \text{ mL} \\ &= 3 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, untuk mendapatkan 5 mL ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 40% dibutuhkan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% sebanyak 2 mL dan 3 mL DMSO 1%.

Pengenceran ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% dilakukan berdasarkan perhitungan berikut ini :

a. Volume ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% yang dibutuhkan

$$\begin{aligned} V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\ V_1 &= \frac{V_2.M_2}{V_1} \\ &= \frac{5.60}{100} \\ &= 3 \text{ mL} \end{aligned}$$

b. Volume DMSO 1% yang dibutuhkan

$$\begin{aligned} &= V_2 - V_1 \\ &= 5 \text{ mL} - 3 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, untuk mendapatkan 5 mL ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 60% dibutuhkan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% sebanyak 3 mL dan 2 mL DMSO 1%.

Pengenceran ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dilakukan berdasarkan perhitungan berikut ini :

- a. Volume ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% yang dibutuhkan

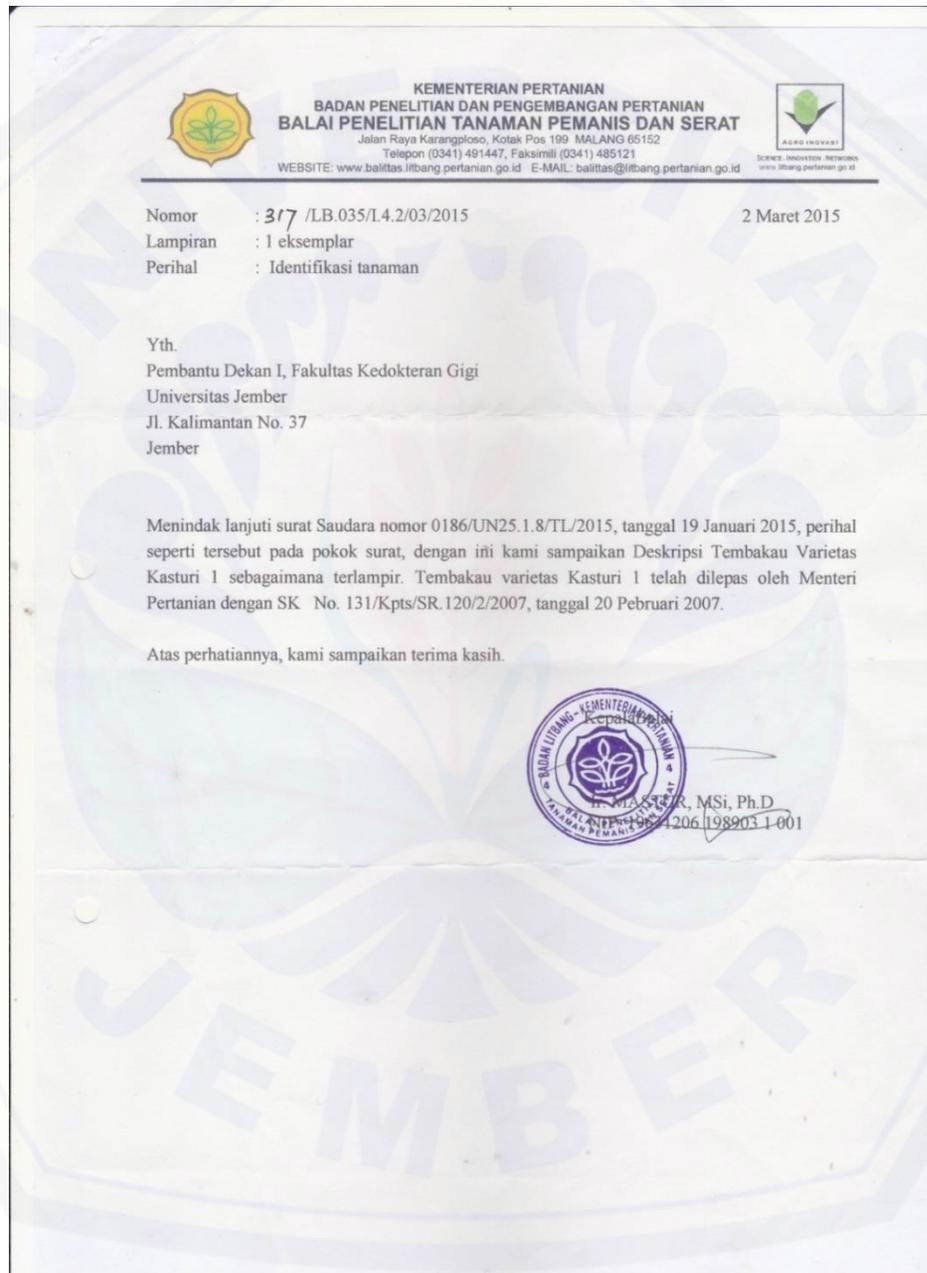
$$V1.M1 = V2.M2$$

$$\begin{aligned} V1 &= \frac{V2.M2}{V1} \\ &= \frac{5.80}{100} \\ &= 4 \text{ mL} \end{aligned}$$

- b. Volume DMSO 1% yang dibutuhkan

$$\begin{aligned} &= V2 - V1 \\ &= 5 \text{ mL} - 4 \text{ mL} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, untuk mendapatkan 5 mL ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 80% dibutuhkan ekstrak etanol daun tembakau konsentrasi 100% sebanyak 4 mL dan 1 mL DMSO 1%.

**Lampiran M. Surat Identifikasi Tembakau****M.1 Surat keterangan identifikasi tembakau Kasturi**

 **KEMENTERIAN PERTANIAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN**  
**BALAI PENELITIAN TANAMAN PEMANIS DAN SERAT**  
Jalan Raya Karangloso, Kotak Pos 199 MALANG 65152  
Telepon (0341) 491447, Faksimili (0341) 485121  
WEBSITE: [www.balittas.litbang.pertanian.go.id](http://www.balittas.litbang.pertanian.go.id) E-MAIL: [balittas@litbang.pertanian.go.id](mailto:balittas@litbang.pertanian.go.id)

 **AGRO INOVASI**  
SCIENCE INNOVATION NETWORK  
[www.litbang.pertanian.go.id](http://www.litbang.pertanian.go.id)

Nomor : 317 /LB.035/L4.2/03/2015  
Lampiran : 1 eksemplar  
Perihal : Identifikasi tanaman

2 Maret 2015

Yth.  
Pembantu Dekan I, Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember  
Jl. Kalimantan No. 37  
Jember

Menindak lanjuti surat Saudara nomor 0186/UN25.1.8/TL/2015, tanggal 19 Januari 2015, perihal seperti tersebut pada pokok surat, dengan ini kami sampaikan Deskripsi Tembakau Varietas Kasturi 1 sebagaimana terlampir. Tembakau varietas Kasturi 1 telah dilepas oleh Menteri Pertanian dengan SK No. 131/Kpts/SR.120/2/2007, tanggal 20 Pebruari 2007.

Atas perhatiannya, kami sampaikan terima kasih.

  
Kepala Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat  
MASTUR, MSi, Ph.D  
0812061989031001

## M.2 Deskripsi tembakau Kasturi yang diidentifikasi

DESKRIPSI TEMBAKAU		VARIETAS KASTURI -1
Species		: <i>Nicotiana tabacum</i>
Tipe		: Kasturi
Habitus		: Kerucut
Tinggi tanaman (cm)		: 71,9 ± 8,7
Ruas batang/internot		: Rapat
Warna batang		: Hijau
Bulu batang		: Berbulu rapat
Jumlah daun (lb)		: 17,7 ± 1,33
Sudut daun		: Tegak
Ujung daun		: Meruncing
Tepi daun		: Licin
Permukaan daun		: Rata
Tebal daun		: Tebal
Warna daun		: Hijau
Phylotaxi daun		: 2/5 ke kiri
Tangkai daun		: Duduk
Sayap (cm)		: lebar licin (> 2,57)
Telinga (cm)		: Lebar
Panjang daun (cm)		: 52,38 ± 5,57
Lebar daun (cm)		: 26,08 ± 3,58
Bentuk daun		: Lonjong
Indeks daun		: 0,497
Umur berbunga (hst)		: 60,4 ± 1,57
Warna mahkota bunga		: Merah muda
Warna kepala sari		: Krem
Bentuk buah		: Bulat telur
Warna biji		: Coklat
Bentuk daun		: Lonjong
Indeks daun		: 0,486
Umur berbunga (hst)		: 66 ± 2,30
Warna mahkota bunga		: Merah muda
Warna kepala sari		: Krem
Bentuk buah		: Bulat telur
Warna biji		: Coklat
Umur Panen terakhir (hst)		: 87 ± 1,13
Produksi rajangan kering (ton/ha)		: 1,75 ± 0,011
Indek mutu		: 81,75 ± 0,98
Indek tanaman		: 140,35 ± 6,13
Kadar nikotin (%)		: 3,12% ± 0,08%
Peneliti Pemulia : Suwarso, Anik Herwati, Sesanti Basuki, Sri Yulaikah dan Fatkhur Rochman		

**Lampiran N. Surat Keterangan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tembakau**

 KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
**FAKULTAS FARMASI**  
Jl. Kalimantan 1/2 Kampus Tegal Boto. Telp./ Fax. (0331) 324736 Jember 68121.

---

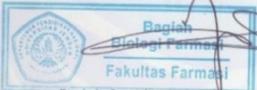
**SURAT KETERANGAN PEMBUATAN EKSTRAK**

Data Pemohon :

Nama : Riria Hendarto Putri  
NIM : 111610101006  
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember

Bahan : Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*)  
Pelarut Pengekstraksi : Etanol 96%  
Metode ekstraksi : Maserasi  
Prosedur : Serbuk simplisia daun tembakau sebanyak 250 gram dimaserasi dengan etanol 96 % sebanyak 7,5 kali berat serbuk selama tiga hari. Maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator*.  
Hasil : Ekstrak etanol daun tembakau dengan rendemen 70 % (b/b)  
Tanggal Pembuatan : 2 Desember 2014

Jember, 5 Desember 2014  
Ketua Bagian Biologi Farmasi

  
Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 198107232006042002