



**AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN TEMBAKAU
KASTURI (*Nicotiana tabacum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Streptococcus mutans dan *Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh:

Susi Maimona Wati

NIM 151710101083

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2019



**AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN TEMBAKAU
KASTURI (*Nicotiana tabacum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Streptococcus mutans dan *Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh:

Susi Maimona Wati

NIM 151710101083

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2019

MOTTO

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.

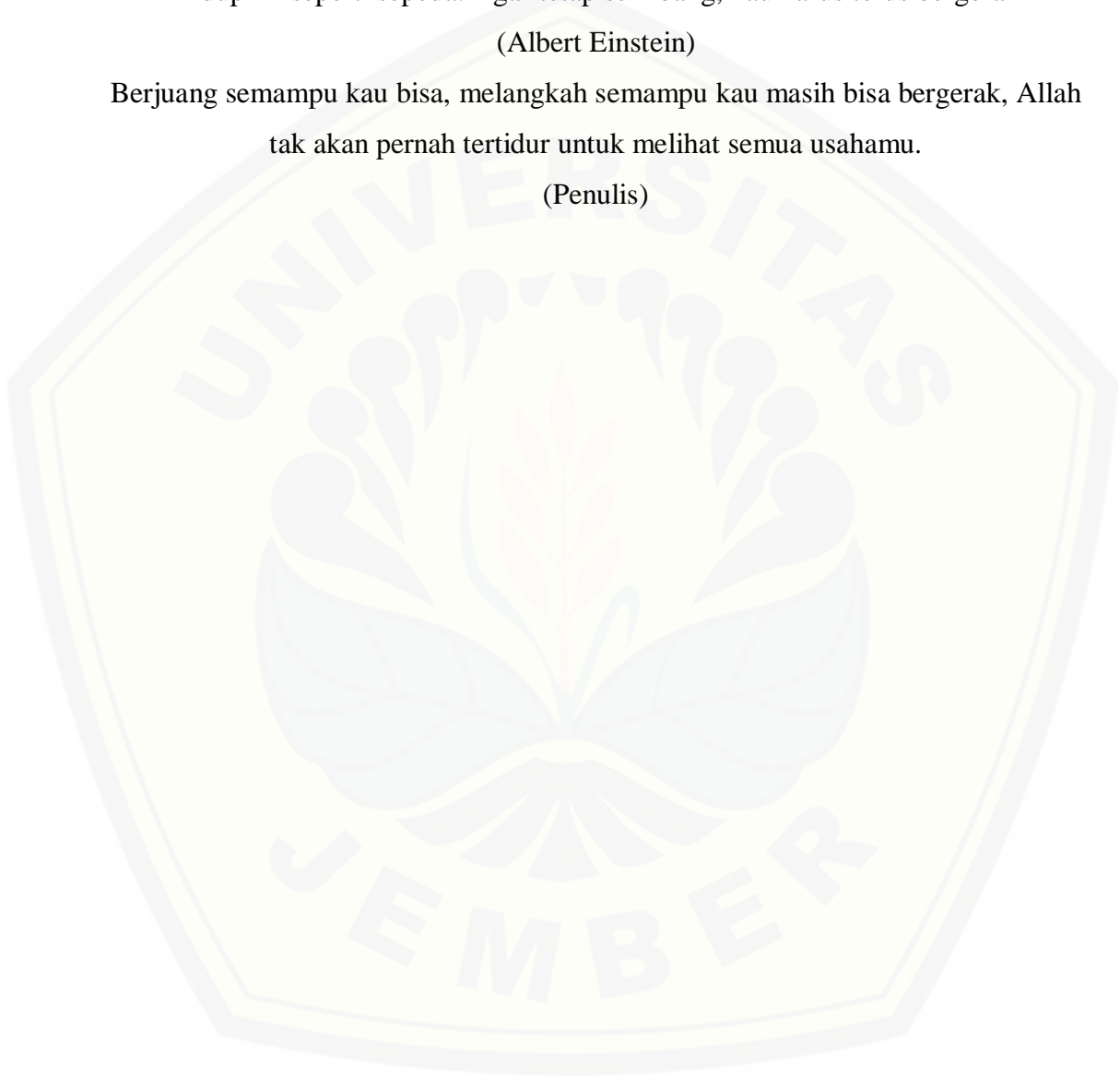
(Al-Baqarah: 286)

Hidup ini seperti sepeda. Agar tetap seimbang, kau harus terus bergerak

(Albert Einstein)

Berjuang semampu kau bisa, melangkah semampu kau masih bisa bergerak, Allah tak akan pernah tertidur untuk melihat semua usahamu.

(Penulis)



PERSEMBAHAN

Saya persembahkan skripsi ini untuk :

1. Allah SWT, puji syukur atas kehadiran-Nya yang telah memudahkan segala urusan hamba-Mu, semoga rahmat dan ampunanmu-Mu selalu mengiringi setiap langkah hamba-Mu dan beri ampun atas segala dosa hamba;
2. Rosulullah SAW, terima kasih telah membimbing umat manusia menjadi khalifah di bumi serta menjadi tauladan umatmu untuk mencapai sebuah kedamaian;
3. Orangtua tercinta, Ibu Nimah dan Bapak Moh. Hasan , terima kasih atas cinta, kasih sayang, doa serta semangat yang luar biasa.
4. Kakakku tercinta Samsul Arifin serta seluruh keluarga besar yang selalu memberikan doa, dukungan, semangat, motivasi, yang selalu memberikan warna dalam kehidupan, sayang selalu untuk kalian;
5. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Jember.

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Susi Maimona Wati

NIM : 151710101083

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans***” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 30 Juli 2019

Yang menyatakan,

(Susi Maimona Wati)

NIM. 151710101083

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN TEMBAKAU
KASTURI (*Nicotiana tabacum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Streptococcus mutans dan *Candida albicans***

Oleh:

Susi Maimona Wati

NIM 151710101083

Dosen Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Sony Suwasono, MAppSc

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si

JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS JEMBER

2019

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “**Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*” Susi Maimona Wati telah diterima, diperiksa dan disahkan pada**

Hari/tanggal : 30 Juli 2019

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Mengetahui,

Dosen Pembimbing Anggota

Dosen Pembimbing Utama

Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si
NIP. 197904102003122004

Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc
NIP. 196411091989021002

Tim
Penguji :

Anggota

Ketua

Dr. Ir. Herlina, M.P
NIP. 196605181993022001

Dr. Ir. Jayus
NIP. 196805161992031004

Mengesahkan,

Dekan

Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Dr. Siswoyo Soekarno, STP., M.Eng
NIP. 19680923 199403 1 009

PRAKATA

Puji syukur bagi Allah SWT berkat rahmat dan hidayah-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan magang kerja yang berjudul “Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*”. Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Teknologi Pertanian di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik oleh penulis atas dukungan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada.

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak membantu, membimbing, dan mengarahkan selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan motivasi dalam penulisan skripsi ini hingga selesai.
5. Dr. Ir. Jayus selaku Dosen Penguji Utama yang telah meluangkan waktu dan memberi arahan kepada saya.
6. Dr. Ir. Herlina, MP. Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu dan memberi arahan kepada saya.
7. Bapak Hasan, Ibu Nimah, Mas Arif serta seluruh keluarga besar yang telah sabar mendoakan, memberikan dukungan dan motivasi agar saya cepat lulus.
8. Nadia Maharani Sahabatku dari SMP yang selalu memberi semangat dan doa.

9. Patner pejuang tembakau Fatmawati Wilujeng, Nurul Nofiyanti, Nala Khusaina Umami, Agnes Emilda, Nany, dan Hayuningtyas Suksmorini yang telah membantu saya selama penelitian dan memberikan motivasi selama menyusun skripsi.
10. Abang Zacky dan Bang Jay yang selalu menjadi orang terdepan ketika aku mulai menyerah dan lelah.
11. Rajib, Dodi, Sasa, Mas riyani, Aldony, Ava, Danang, Tezar, Septiwi yang telah menjadi teman sampai larut pagi untuk menyelesaikan Skripsi ini.
12. Adek-adekku Fajar Wagianto, Fandi Dwi Prasetyo yang selalu menjadi penghibur ketika aku lagi lelah dengan semua keadaan dan menjadi pendengar setia ketika aku sambat.
13. Seluruh adek-adekku Fitri melinia, Yoga Dheo Lisandi, Baharudin, Deni Dwi Kurniawan, yang telah memberikan semangat dan doa.
14. Terima kasih teruntuk Neza yang telah setia menjadi editor penulisan selama penyusunan skripsi ini.
15. Terima kasih teruntuk Rimanda Safitri Dewi yang telah setia memberikan bantuan, menjadi teman keman-mana, teman mencari makan dan teman susah.
16. Teman-teman seperjuangan THP-B 15 yang saling memberikan motivasi dan semangat dalam suka duka perkuliahan.
17. Seluruh pejuang gelar S.TP angkatan 2015 yang tetap semangat berjuang bersama-sama
18. Keluarga besar UKM-O Sahara yang memberikan banyak kenangan dan pengalaman.
19. Keluarga besar kosan Pak to Squad (mak ghisel, maisaroh, eva, nia, nurul, rendra, dan nesya serta seluruh penghuni) yang telah memberikan doa dan semangat.
20. Buat mas dan angkatan 2012 yang banyak membantu dan memberi arahan selama saya menyusun tugas akhir ini.

21. Keluarga besar Masjem (mbak wiwin, mas lutfi, mbak itus, mas juant, mbak astri, mas arif, mas hajir, mas dwi) yang telah memberikan doa dan semangat.
22. Keluarga Besar dari desa Pejaten yang telah memberikan doa dan motivasiya.
23. Teman-teman team futsal dan voli yang telah memberikan doa dan semangat.
24. Teman-teman dari tanah kelahiran yang sudah memberikan banyak pengalaman, motivasi, dan doa dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan di masa mendatang. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, 30 Juli 2019
Penulis

SUMMARY

Antimicrobial Activity of Kasturi Tobacco (*Nicotiana Tabacum* L.) Leaf Extract Against *Streptococcus mutans* And *Candida albicans*; Susi Maimona wati; 2015; 151710101083; 68 pages; Departemen of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Tobacco is one of the plantation commodities that were widely cultivated in the Indonesian territory. The main utilities of tobacco such as leaf part that used as ingredient on making of cigarettes. In the industry, tobacco leaf has certain standard can causes it doesn't pass sorting and just wasted or neglected. It's still contained such as flavonoids, saponins, alkaloids, and terpenoids which are antimicrobial. The active compound of tobacco leaf was extracted by appropriate solvent to result of maximally active compounds. In this research was used 2 type solvent include water and ethanol. The used of different solvent which expected to be able extracting bioactive compounds on tobacco leaf. The bioactive compounds can inhibit *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* growth.

This research was conducted by 4 phases include tobacco leaf extraction using maceration method, analysis of polyphenols total using Folin-Ciocalteu method, antioxidant activity using DPPH method, and antibacterial of tobacco leaf extract using solid agar dilution method to determination of minimum inhibition concentration (MIC) and IC₅₀.

The result of this research showed that the tobacco leaf extract with 80% ethanol solvent maximally extracting the bioactive compounds with polyphenols total of 64.22 mg GAE/ml and antioxidant activity of 71.47%. Determination of Inhibitory Concentration (MIC) and IC₅₀ are processed using three methods, namely regular curve calculation, logarithmic curve calculation, and probit curve calculation. Antimicrobial activity test of tobacco leaf extract with ethanol solvent using solid agar dilution on *Streptococcus mutans* was result MIC of 637.94 µg/ml and IC₅₀ of 173.04 µg/ml, while *Candida albicans* was result MIC of 964.14 µg/ml and IC₅₀ of 234.09 µg/ml.

Keywords: Tobacco, Antimicrobial, Bioactive Compounds, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*.

RINGKASAN

Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*; Susi Maimona wati; 2015; 151710101083; 68 halaman; Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Tembakau merupakan salah satu komoditi perkebunan yang banyak di budidayakan di wilayah Indonesia. Pemanfaatan paling utama dari tembakau yaitu bagian daunnya, untuk digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan rokok. Dalam dunia industri rokok daun tembakau memiliki standar tertentu yang mengakibatkan daun tembakau banyak yang tidak lolos sortir dan hanya terbuang atau terbengkalai. Daun tembakau yang tidak lolos sortir masih mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, steroid, alkaloid dan terpenoid yang bersifat sebagai antimikroba. Senyawa aktif yang ada didalam daun tembakau diekstrak menggunakan pelarut yang sesuai untuk menghasilkan senyawa aktif secara maksimal. Pada penelitian menggunakan dua jenis pelarut yaitu air dan etanol 80%. Penggunaan pelarut yang berbeda diharapkan mampu mengekstrak senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun tembakau. Senyawa bioaktif yang ada dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*.

Penelitian dilaksanakan dalam 4 tahap, yaitu ekstraksi daun tembakau dengan metode maserasi, analisis total polifenol dengan metode *Folin-Ciocalteu*, analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, dan analisis antimikroba ekstrak daun tembakau menggunakan metode dilusi agar padat untuk penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan IC_{50} .

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun tembakau dengan pelarut etanol 80% maksimal mengekstrak senyawa bioaktif dengan total polifenol sebesar 64,22 mg GAE/ml dan aktivitas antioksidan sebesar 71,47%. Penentuan Konsentrasi Hambat (KHM) dan IC_{50} diolah menggunakan tiga metode yaitu perhitungan kurva reguler, perhitungan kurva logaritmik, dan perhitungan kurva probit. Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak daun tembakau dengan pelarut etanol metode dilusi agar padat pada *Streptococcus mutans* menghasilkan KHM sebesar 0,637 mg/ml dan IC_{50} sebesar 0,173 mg/ml, sedangkan *Candida albicans* menghasilkan KHM sebesar 0,964 mg/ml dan IC_{50} sebesar 0,234 mg/ml.

Kata Kunci: Tembakau, Antimikroba, Senyawa bioaktif, *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*.

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN JUDUL | ii |
| MOTTO..... | iii |
| LEMBAR PERSEMBAHAN..... | iv |
| LEMBAR PERNYATAAN | v |
| LEMBAR PENGESAHAN..... | vii |
| PRAKATA | viii |
| SUMMARY | xi |
| RINGKASAN..... | xii |
| DAFTAR ISI..... | xiii |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xvi |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Tujuan..... | 3 |
| 1.4 Manfaat..... | 4 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1 Tembakau | 5 |
| 2.2 Mekanisme Esktraksi | 6 |
| 2.3 Aktivitas Antimikroba Senyawa Bioaktif Daun Tembakau..... | 7 |
| 2.4 Aktivitas Senyawa Antioksidan..... | 9 |
| 2.5 Jenis Mikroba..... | 11 |
| 2.5.1 <i>Streptococcus mutans</i> | 11 |
| 2.5.2 <i>Candida albicans</i> | 12 |
| BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN | 13 |
| 3.1 Waktu dan Tempat | 13 |
| 3.2 Alat dan Bahan..... | 13 |
| 3.2.1 Alat Penelitian..... | 13 |

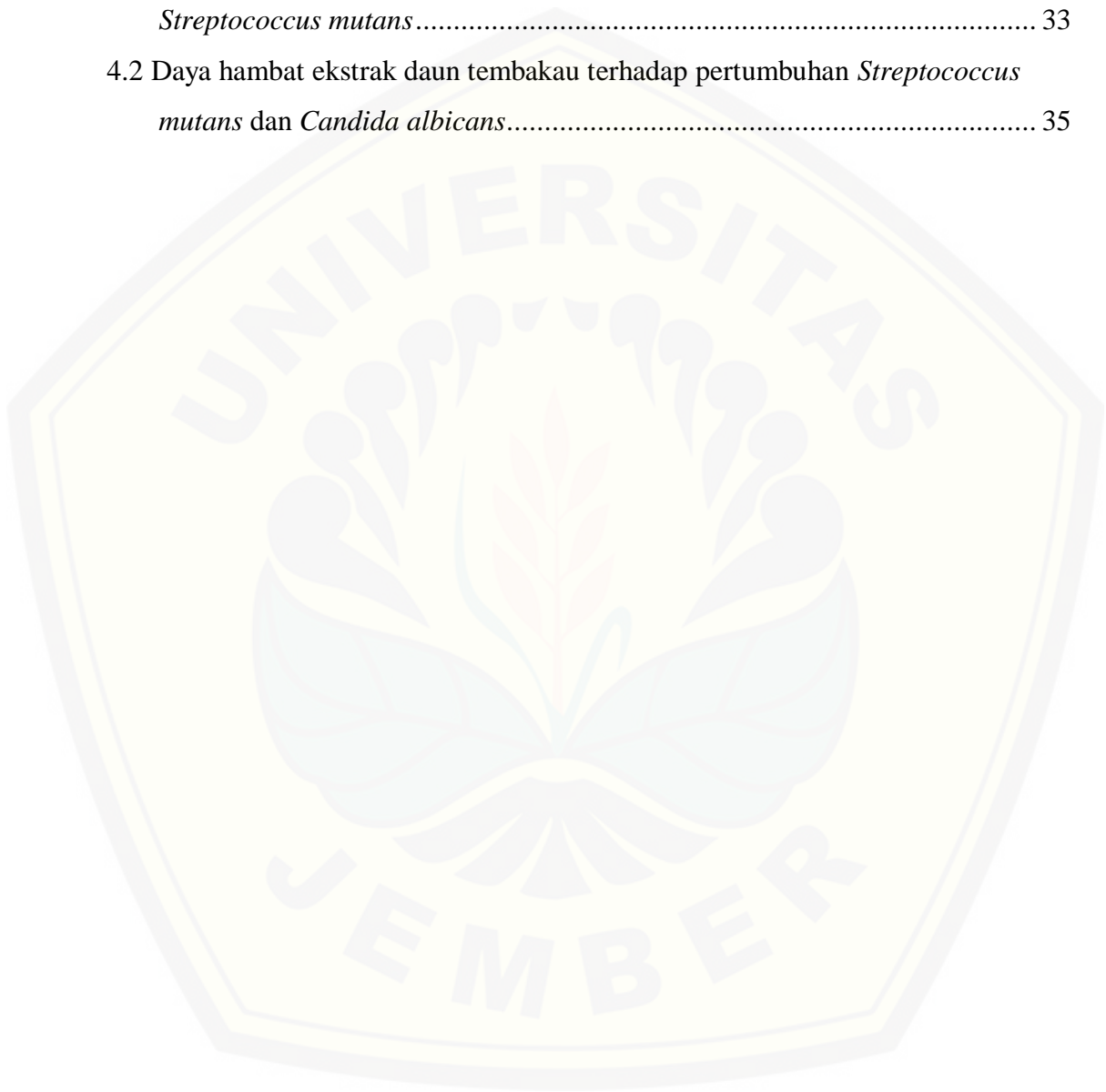
| | |
|--|-----------|
| 3.2.2 Bahan Penelitian..... | 13 |
| 3.3 Rancangan Penelitian | 14 |
| 3.4 Tahap Prosedur Penelitian..... | 14 |
| 3.4 Prosedur Pengamatan | 18 |
| 3.4 Analisa Data | 22 |
| BAB 4 PEMBAHASAN | 23 |
| 4.1 Total Polifenol | 23 |
| 4.2 Aktivitas Antioksidan..... | 25 |
| 4.3 Aktivitas Antimikroba Esktrak Daun Tembakau..... | 26 |
| BAB 5 PENUTUP | 33 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 33 |
| 5.2 Saran..... | 33 |
| DAFTAR PUSTAKA | 34 |
| LAMPIRAN | 40 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| 2.1 Mekanisme penangkapan radikal bebas oleh polifenol..... | 10 |
| 2.2 <i>Streptococcus mutans</i> | 11 |
| 2.3 Struktur dinding <i>C. albicans</i> dan bentuk mikroskopis <i>C. albicans</i> | 12 |
| 3.1 Diagram alir pembuatan ekstrak daun tembakau..... | 15 |
| 3.2 Diagram alir uji total polifenol ekstrak daun tembakau kasturi | 16 |
| 3.3 Diagram alir uji aktivitas antioksidan ekstrak daun tembakau kasturi | 16 |
| 3.4 Diagram alir uji antimikroba ekstrak daun tembakau kasturi..... | 17 |
| 4.1 Total polifenol ekstrak daun tembakau kasturi..... | 23 |
| 4.2 Aktivitas antioksidan ekstrak daun tembakau kasturi..... | 25 |
| 4.3 Kurva regular penghambatan ekstrak polifenol daun tembakau menggunakan pelarut etanol 80% terhadap pertumbuhan <i>Candida albicans</i> | 27 |
| 4.4 Kurva regular penghambatan ekstrak polifenol daun tembakau menggunakan pelarut air terhadap pertumbuhan <i>Candida albicans</i> | 27 |
| 4.5 Kurva logaritmik penghambatan ekstrak polifenol daun tembakau menggunakan pelarut etanol 80% terhadap <i>Candida albicans</i> | 28 |
| 4.6 Kurva logaritmik penghambatan ekstrak polifenol daun tembakau menggunakan pelarut air terhadap <i>Candida albicans</i> | 28 |
| 4.7 Grafik kurva probit <i>Candida albicans</i> ekstrak etanol 80%..... | 29 |
| 4.8 Grafik kurva probit <i>Candida albicans</i> ekstrak daun tembakau air | 29 |
| 4.9 Kurva regular penghambatan ekstrak polifenol daun tembakau menggunakan pelarut etanol 80% terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> | 30 |
| 4.10 Kurva regular penghambatan ekstrak polifenol daun tembakau menggunakan pelarut air terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> | 30 |
| 4.11 Kurva logaritmik penghambatan ekstrak polifenol daun tembakau menggunakan pelarut etanol 80% terhadap <i>Streptococcus mutans</i> | 31 |
| 4.12 Kurva logaritmik penghambatan ekstrak polifenol daun tembakau menggunakan pelarut air terhadap <i>Streptococcus mutans</i> | 31 |
| 4.13 Grafik kurva probit <i>Streptococcus mutans</i> ekstrak etanol 80%..... | 32 |
| 4.14 Grafik kurva probit <i>Streptococcus mutans</i> ekstrak daun tembakau air..... | 32 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| 2.1 Karakteristik tembakau kasturi 1 dan kasturi 2 | 5 |
| 4.1 Konsentrasi hambat minimum dan IC ₅₀ mikroba <i>Candida albicans</i> dan <i>Streptococcus mutans</i> | 33 |
| 4.2 Daya hambat ekstrak daun tembakau terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus</i> <i>mutans</i> dan <i>Candida albicans</i> | 35 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1. Dokumentasi | 44 |
| Lampiran 2. Total polifenol | 47 |
| Lampiran 3. Aktivitas antioksidan..... | 49 |
| Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan IC ₅₀ Metode Kurva Probit | 50 |
| Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan IC ₅₀ Metode Kurva Reguler | 58 |
| Lampiran 6. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan IC ₅₀ Metode Kurva Logaritmik | 64 |

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masalah kesehatan yang terjadi pada rongga mulut masih merupakan suatu masalah yang belum teratasi dengan baik. Hasil Riset Kesehatan Dasar (RIKESDAS) 2007 yang diselenggarakan Departemen Kesehatan, prevalensi nasional karies aktif adalah 43,4%, sedangkan berdasarkan SKRT (2014) tingginya prevalensi karies di Indonesia mencapai 90,05%. Hal ini dikarenakan mikroba yang terkandung didalam mulut, dimana menurut putri *et al.* (2014) menyatakan bahwa mikroba yang paling banyak dalam rongga mulut yaitu *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram-positif yang menyebabkan awal terbentuknya karies gigi, sedangkan *Candida albicans* merupakan jamur flora normal yang ada di rongga mulut yang bisa mengakibatkan infeksi pada mulut apabila pertumbuhannya berlebihan. Salah satu upaya dalam mengurangi mikroba pada mulut yaitu dengan menggunakan obat kumur yang di anggap lebih efektif penggunaannya daripada sikat gigi. Menurut Reidy (2011), obat kumur yang digunakan oleh masyarakat merupakan obat kumur yang mengandung alkohol dan bahan-bahan kimia, sehingga menyebabkan efek seperti rasa kering pada mukosa mulut. Alkohol dapat mengganggu fungsi saliva karena mampu menghasilkan senyawa metabolit yang bersifat karsinogenik seperti *acetaldehyde*. Menurut Sabir (2005) penggunaan obat kimia menimbulkan dampak negatif bagi tubuh konsumen yang mengkonsumsinya secara berkelanjutan, sehingga banyak masyarakat yang beralih ke bahan alam dalam melakukan pengobatan terhadap penyakit yang di derita. Efek penggunaan obat kumur kimia dapat diminimalisir apabila bahan yang digunakan dalam pembuatan obat kumur menggunakan bahan alami. Salah satu alternatif bahan alami yang dapat digunakan yaitu ekstrak daun tembakau.

Selama ini daun tembakau hanya digunakan dalam pembuatan pembuatan rokok. Pada dunia usaha rokok, daun tembakau yang digunakan memiliki syarat dan ketentuan tertentu sesuai permintaan dari pabrik. Hal tersebut membuat beberapa hasil panen daun tembakau yang tidak lolos sortir (daun afkir) memiliki

ciri seperti daun berlubang dan menggulung. Penyebab kerusakan daun biasanya disebabkan oleh serangan hama sehingga membuat daun menjadi rusak. Penurunan kualitas tembakau akan mempengaruhi harga yang disepakati sehingga petani akan banyak merugi akibat kerusakan hasil panen. Daun tembakau yang terbungkalai masih memiliki kandungan senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antibakteri dan antijamur. Menurut Taiga dan Friday (2009) bahan aktif yang terkandung dalam daun tembakau antara lain golongan fenol berupa flavonoid, golongan alkaloid berupa nikotin, golongan saponin berupa steroid, dan minyak atsiri berupa terpenoid.

Untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang ada didalam tanaman dilakukan melalui proses ekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai jenis pelarut, dimana setiap jenis pelarut itu akan menghasilkan senyawa bioaktif yang berbeda sesuai dengan sifat kepolaran dari pelarut yang digunakan. Senyawa yang bersifat polar hanya akan larut pada pelarut polar seperti etanol, butanol, metanol dan air. Senyawa yang bersifat non-polar juga hanya larut pada senyawa non-polar seperti eter, kloroform dan n-heksana (Gritter *et al.*, 1991). Senyawa bioaktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi daun tembakau mempunyai sifat antibakteri berupa alkaloid mampu bekerja merusak penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri, sedangkan yang bersifat antijamur seperti flavonoid dengan cara kerja mendenaturasi protein yang dapat mengganggu terbentuknya sel dan fungsi dari membran sel. Menurut Cawan 1999 dalam Putri *et al* (2014) kandungan senyawa aktif terbesar yang ada didalam ekstrak daun tembakau yaitu flavonoid, dimana flavonoid merupakan senyawa fenolik terbesar yang ada didalam ekstrak daun tembakau. Menurut Erindyah dan Maryati, (2002) menyatakan bahwa senyawa flavonoid mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh ekstrak daun tembakau kasturi terhadap penghambatan mikroba patogen seperti *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans* perlu dilakukan untuk lebih membuktikan bahwa ekstrak daun tembakau mampu menghambat pertumbuhan mikroba.

1.2 Rumusan Masalah

Penggunaan obat kumur dalam kehidupan sehari-hari masih memiliki senyawa bahan kimia yang dapat berdampak negatif ketika dikonsumsi secara berkelanjutan. Menurut beberapa penelitian dalam daun tembakau masih memiliki senyawa bioaktif yang mampu bersifat sebagai antimikroba. Salah satu senyawa yang mampu menghambat terjadinya pertumbuhan pada mikroba yaitu senyawa polifenol. Menurut Prayoga (2010) senyawa polifenol memiliki pengaruh yang signifikan terhadap proses penghambatan pertumbuhan suatu bakteri. Polifenol memiliki senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri bermanfaat dalam penghambatan aktivitas biologis bakteri *Streptococcus mutans* yang berperan penting sebagai bakteri penyebab karies (Misnawi *et al.*, 2008). Senyawa polifenol dihasilkan melalui proses ekstraksi, dimana proses ekstraksi daun tembakau afkir dilakukan dengan menggunakan jenis pelarut yang berbeda untuk mengetahui kemampuan pelarut dalam mengekstraksi senyawa aktif dalam daun tembakau afkir. Penggunaan pelarut tersebut diharapkan mampu mengekstrak senyawa aktif seperti flavonoid dan alkaloid, saponin, steroid dan terpenoid. Pelarut etanol memiliki dua sisi yang terdiri dari gugus hidroksil (OH^-) yang bersifat polar dan gugus CH_2CH_3 yang bersifat non polar (Aziz *et al.*, 2014). Selain jenis pelarut yang digunakan, konsentrasi pelarut juga mempengaruhi jumlah atau banyaknya senyawa aktif yang terekstrak. Oleh karena itu penelitian ekstraksi daun tembakau afkir dilakukan menggunakan dua jenis pelarut yang berbeda yaitu pelarut air dan etanol untuk mengetahui total polifenol dan aktivitas antioksidannya, selanjutnya dilakukan uji aktivitas antimikroba terhadap mikroba *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*.

1.3 Tujuan

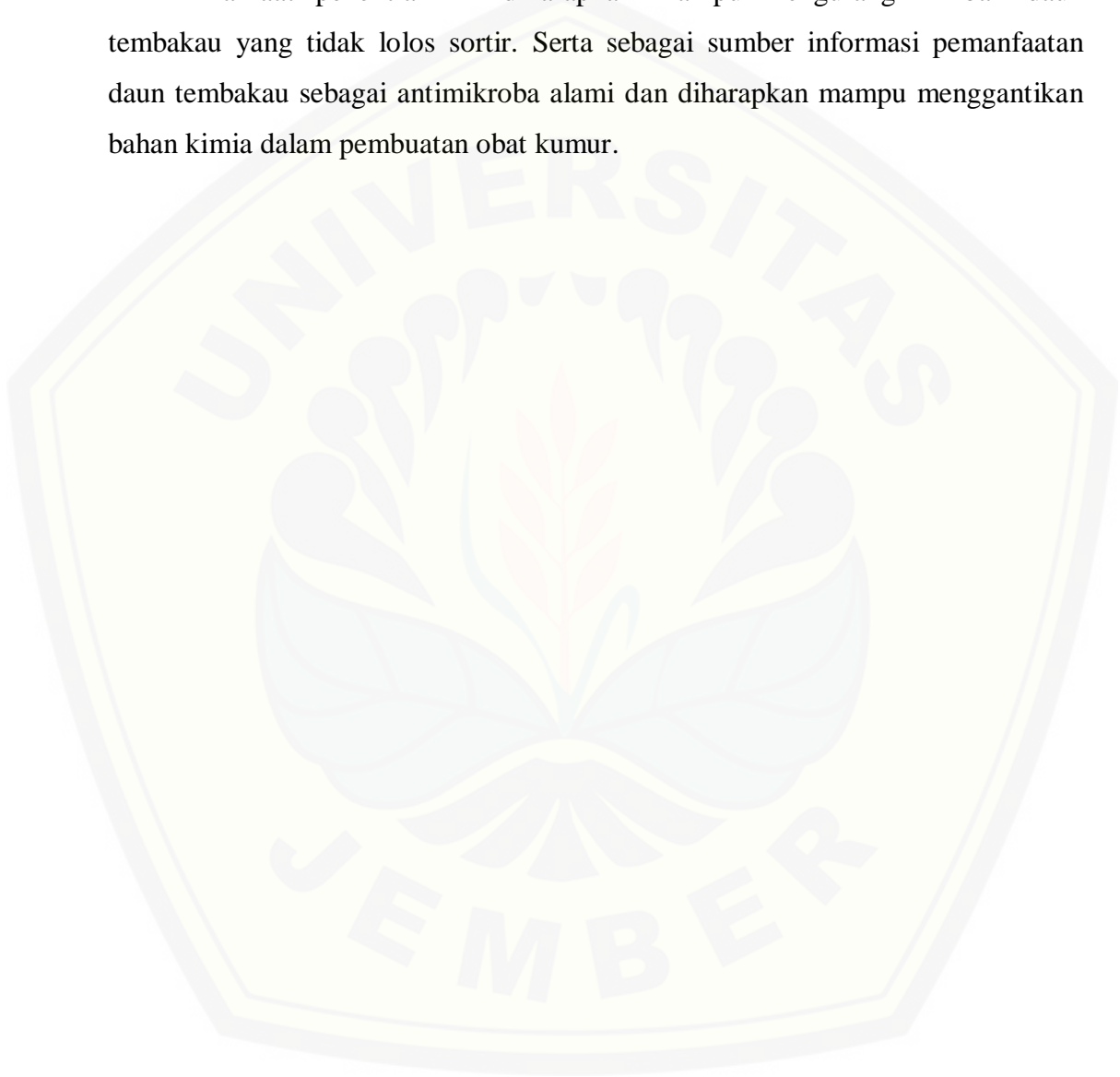
Tujuan penelitian ini antara lain :

1. Mengetahui total polifenol ekstrak daun tembakau yang diekstrak dengan pelarut air dan etanol.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*).

3. Mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini diharapkan mampu mengurangi limbah daun tembakau yang tidak lolos sortir. Serta sebagai sumber informasi pemanfaatan daun tembakau sebagai antimikroba alami dan diharapkan mampu menggantikan bahan kimia dalam pembuatan obat kumur.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum L.*)

Tembakau adalah salah satu komoditi perkebunan yang banyak dibudidayakan di Indonesia, dan termasuk kedalam tanaman musiman yang tumbuh pada musim penghujan dan dipanen pada musim kemarau. Menurut Direktorat Jenderal Perkebunan (2016) produksi tembakau di Indonesia pada tahun 2016 mencapai 196.154 ton pertahun. Penyumbang terbanyak produksi tembakau di pulau Jawa yaitu provinsi Jawa Timur dengan produksi tembakau dengan total produksi 99.016 ton dan luas produksi 924 ha. Beberapa jenis tembakau yang dibudidayakan di provinsi Jawa Timur salah satunya adalah jenis tembakau kasturi dengan kapasitas produksi terbesar ke-3 di daerah Jawa Timur sebesar 16.683 ton. Penghasil tembakau jenis kasturi meliputi daerah Jember, Lumajang, Situbondo, Bondowoso, dan Banyuwangi.

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik Jawa Timur (2018) pada tahun 2015 Jember merupakan penghasil tembakau terbesar di Jawa Timur sebesar dengan kapasitas produksi 18.511 ton dan produksi terbesar didaerah Jember terjadi pada tahun 2012 dengan produksi 31. 284 ton. Menurut Hermaningsih (2014) jenis tembakau kasturi yang sering dibudidayakan didaerah Kabupaten Jember adalah Tembakau Kasturi 1 dan Kasturi 2. Karakteristik kedua varietas ini dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Karakteristik tembakau kasturi 1 dan 2

| Karakteristik | Kasturi 1 | Kasturi 2 |
|----------------|---|---|
| Asal varietras | Seleksi massa positif kasturi mawar, Jember | Seleksi massa positif kasturi Ledokombo |
| Bentuk daun | Lonjong | Lonjong |
| Ujung daun | Meruncing | Meruncing |
| Tepi daun | Rata | Rata |
| Permukaan daun | Rata | Rata |
| Phylotaxi | 2/5, putar ke kiri | 2/5, putar ke kiri |
| Indeks daun | 0,486 | 0,529 |
| Jumlah daun | 16-19 lembar | 17-19 lembar |
| Produksi | 1,75 ton krosok/ha | 1,75 ton krosok/ha |
| Indeks mutu | 81,75 + 0,98 | 82,40+1,03 |
| Kadar nikotin | 3,21 + 0,08 | 3,54 + 0,04 |

Sumber : <http://balittas.litbang.pertanian.go.id>

Tembakau kasturi merupakan salah satu tipe tembakau yang diolah secara krosok (*leaf type*) atau lembaran-lembaran daun. Tembakau kasturi adalah salah satu tanaman tembakau yang di tanam pada musim kemarau dan dipanen pada musim penghujan atau dikenal dengan istilah *Voor Oogst* (VO). Menurut Sholeh *et al.* (2000) kandungan senyawa nikotin pada tembakau kasturi memiliki presentase tertinggi dibandingkan dengan tembakau jenis lain dengan presentase sebesar 3,21%. Tipe, grade, dan mutu tembakau krosok kasturi yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh karakteristik tanah terutama tekstur (*sub soil*) permukaan (*top soil*) dan bawah permukaan tanah. Tanah ringan cenderung untuk menghasilkan suatu daun tipis dan besar, bobot ringan dan warna cerah, rasa lembut dan aroma harum, sedangkan daun yang diproduksi pada tanah berat memiliki ciri-ciri tebal dan berat, berwarna gelap, berbau kuat dan aromatik (Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur, 2013).

2.2 Mekanisme Ekstraksi Pelarut

Menurut Mukhriani (2014) ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dari campuran dengan menggunakan pelarut. Proses ekstraksi dihentikan ketika konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi bahan sudah seimbang. Penggunaan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Menurut Sarker *et al.* (2006) dalam memilih metode ekstraksi perlu dilakukan penentuan target ekstraksi, beberapa target ekstraksi seperti berikut:

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Ekstraksi banyak digunakan untuk mengetahui senyawa yang ada didalam tumbuhan untuk mengetahui senyawa sekunder yang terkandung didalamnya. Ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan senyawa yang diinginkan atau menghilangkan komponen yang tidak diinginkan dari tumbuhan. Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut.
3. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya.
4. Pelarut semipolar: etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
5. Pelarut non polar: n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya.

(Muhkriani, 2014)

Selama ekstraksi, pelarut akan berdifusi ke dalam bahan tanaman dan melarutkan senyawa yang terkandung di dalamnya berdasarkan kepolaran yang sama (Ncube *et al.*, 2008). Menurut Hammado *et al.* (2013) pemilihan jenis pelarut yang digunakan harus memperhatikan beberapa faktor seperti tingkat kepolaran, titik didih, sifat racun, mudah tidaknya terbakar dan pengaruh terhadap peralatan ekstraksi. Penggunaan jenis pelarut berpengaruh terhadap hasil rendemen yang dihasilkan dari ekstraksi, hal ini dikarenakan kelarutan pada suatu pelarut sangat ditentukan oleh kemampuan zat dalam membentuk ikatan hidrogen (Khopkar, 1990 dalam Sayuti, 2017).

Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula, karena itu flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar. Pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah metanol, aseton, etanol, air dan isopropanol. Menurut Dewi *et al.* (2012) menyatakan bahwa proses ekstraksi juga dipengaruhi oleh jenis pelarut, suhu ekstraksi, dan waktu ekstraksi.

2.3 Aktivitas Antimikroba Senyawa Bioaktif Daun Tembakau

Menurut Syarif *et al.*, (2007) antimikroba adalah suatu senyawa atau agen yang dapat membunuh atau menghibisi pertumbuhan suatu mikroorganisme dan terutama mikroorganisme patogen pada manusia. Agen senyawa antimikroba

dapat digolongkan menurut jasad renik yang dibasmi yaitu antibiotik, antivirus, antifungi, antiprotozoa dan antihelminthes. Antimikroba dibagi menjadi dua kelompok luas, yaitu golongan bakteriostatik yang menghambat replikasi mikroba dan golongan bakterisidal yang secara bekerja secara utama membunuh mikroba (Bennet *et al.*, 2012).

Menurut Tiaga dan Friday (2009) daun tembakau mengandung senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antibakteri dan antijamur seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid. Berikut mekanisme senyawa metabolit daun tembakau sebagai antimikroba :

1. Flavonoid

Menurut Cawwan (1999) senyawa flavonoid memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang baik dengan cara mengurangi kekebalan mikroorganisme sasaran. Mekanisme kerja antimikroba flavonoid yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri dan mampu merusak dinding sel jamur. Flavonoid mampu berikatan dengan dinding sel yang membentuk ikatan hidrogen antara protein dan fenol yang mampu menyebabkan kerusakan pada dinding sel jamur.

2. Alkaloid

Alkaloid mempunyai sifat antibakteri dengan bekerja merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel bakteri mengalami lisis dan terjadi kematian sel. Menurut Chusien dan Lamb (2005 dalam Putri *et al.*, 2014) alkaloid merupakan salah satu senyawa kimia yang bersifat basa nitrogen yang mengandung lebih dari satu atom nitrogen. Kandungan alkaloid utama dalam daun tembakau adalah nikotin, dimana nikotin merupakan metabolit sekunder dari ornitin yang mampu menghambat pertumbuhan jamur.

3. Terpenoid

Menurut Nychas dan Tassao (2000) senyawa terpenoid merupakan golongan minyak atsiri yang berperan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja terpenoid yaitu dengan penghambatan enzim oleh minyak atsiri yang mampu mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Kerusakan dinding sel

dikarenakan akumulasi komponen lipofilik dinding sel atau membran sel yang merubah komposisi penyusun dinding sel. Kandungan fenol pada minyak atsiri mampu mendenaturasi protein dengan kadar rendah sedangkan pada kadar tinggi akan menyebabkan koagulasi protein dan melisis sel membran mikroba (Parwata *et al.*, 2008).

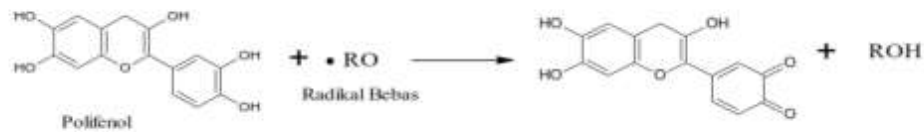
4. Steroid

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri, 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed, 2007).

2.4 Aktivitas Senyawa Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi (Sayutidaan Yenrina, 2015). Antioksidan secara kimiawi merupakan senyawa yang mampu mendonorkan elektron, sedangkan secara biologis antioksidan merupakan salah satu senyawa yang dapat menangkal dampak negatif dari oksidan. Antioksidan dalam tubuh dibutuhkan untuk melindungi tubuh akibat terjadinya radikal bebas. Menurut Winarti (2010) mekanisme kerja antioksidan yaitu dengan mendonorkan satu elektron untuk melakukan penghambatan terhadap aktivitas senyawa oksidan.

Menurut Sayuti dan Yenrina (2015) antioksidan dapat diperoleh dari dua sumber yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Penggunaan dari senyawa antioksidan sintetis banyak dikurangi karena dikhawatirkan memiliki efek samping yang tidak diterima oleh tubuh, sehingga antioksidan menjadi alternatif. Antioksidan alami ini dapat diperoleh dari berbagai jenis tanaman karena mengandung senyawa kimia tertentu yang berpotensi sebagai antioksidan (Panjaitan *et al.*, 2014). Mekanisme penangkapan radikal bebas oleh polifenol yang dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Mekanisme penangkapan radikal bebas oleh polifenol (Haryoto *et al.*, 2007)

Penggunaan antioksidan alami dibidang industri makanan mulai berkembang hal ini dikarenakan penggunaan bahan antioksidan sintetik mulai dibatasi. Antioksidan yang ditambahkan kedalam bahan makanan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu : (1) tidak mempunyai efek fisiologis yang berbahaya; (2) tidak menyebabkan terbentuknya flavor, odor atau warna yang tidak disukai pada lemak atau makanan; (3) efektif pada konsentrasi rendah; (4) larut dalam lemak; (5) tahan terhadap proses pengolahan; (6) mudah diperoleh; dan (7) ekonomis (Muchtadi *et al.*, 1993). Senyawa antioksidan banyak ditemukan dalam buah dan sayur salah satunya yaitu flavonoid. Menurut Sayuti dan Yenrina (2015) flavonoid memiliki potensi dalam melawan penyakit yang disebabkan radikal bebas. Kacang-kacangan, sayur-sayuran, buah-buahan, coklat dan teh merupakan sumber flavonoid.

Antioksidan merupakan senyawa yang terdapat secara alami dalam bahan pangan. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan yang disebabkan terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang sehingga bahan pangan yang berasa dan beraroma tengik. Antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Secara langsung efek yang diberikan oleh antioksidan dalam tubuh, yaitu dengan mereduksi radikal bebas dalam tubuh, dan secara tidak langsung, yaitu dengan mencegah terjadinya pembentukan radikal (Sayuti dan Yenrina, 2015). Dalam bidang industri pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, sertakerusakan fisik lainnya (Tamat *et al.*, 2007).

2.5 Jenis Mikroba Rongga Mulut

2.5.1 *Streptococcus mutans*

Menurut Adindaputri *et al.* (2013) *Streptococcus mutans* adalah bakteri gram positif yang berbentuk kokus dan berada di rongga mulut manusia. Bakteri ini merupakan penyebab utama karies pada gigi dikarenakan mampu menghasilkan polisakarida ekstraseluler yang larut dan tidak larut seperti glukon dan fruktan yang merupakan gula penyebab terbentuknya plak dan kariogenetis. *S.mutans* memiliki beberapa faktor penyebab karies seperti perlekatan terhadap permukaan enamel, produksi asam metabolit, kapasitas untuk membangun cadangan glikogen, dan kemampuan untuk mensintesis polisakarida ekstraseluler yang terdapat dalam karies gigi. *S.mutans* bersifat nonmotil (tidak bergerak), anaerob fakultatif serta berbentuk kokus yang sendirian, berbentuk bulat atau bulat telur, dan tersusun seperti rantai. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu sekitar 18°C – 40°C (Nugraha, 2011). Bentuk dari pertumbuhan *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada gambar 2.2. Morfologi *S.mutans* dalam taksonomi adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Monera*

Divisi : *Firmicutes*

Kelas : *Bacilli*

Order : *Lactobacilalles*

Keluarga : *Streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus mutans*

(Bergey & Boone, 2009)

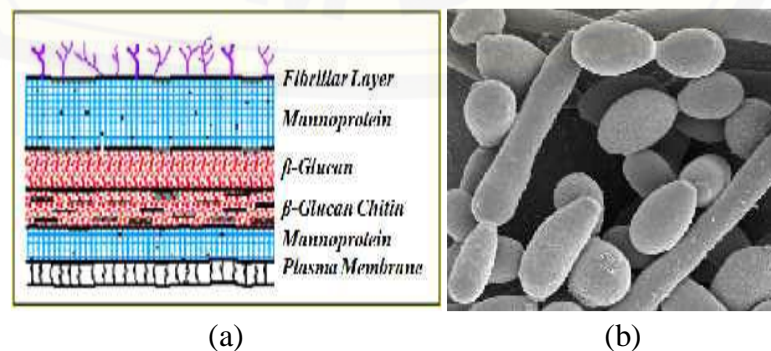


Gambar 2.2 *Streptococcus mutans* (Todar, 2009)

2.5.2 *Candida albicans*

Candida albicans adalah fungi patogen oportunistik yang menyebabkan berbagai penyakit pada manusia seperti sariawan, lesi pada kulit, *vulvovaginitis*, *candiduria* dan *gastrointestinal candidiasis*. Menurut Shao *et al.*, (2007) *C.albicans* termasuk mikroba normal yang hidup dalam rongga mulut, saluran pencernaan dan vagina manusia. Mekanisme infeksi *C.albicans* sangat kompleks termasuk adhesi dan invasi, perubahan morfologi dari bentuk sel khamir ke bentuk filamen (hifa), pembentukan biofilm dan penghindaran dari sel-sel imunitas inang. *C.albicans* termasuk jenis mikroba jamur yang umum ada pada manusia sehat dan mampu menyebabkan infeksi sistematis dalam keadaan imunitas yang menurun.

Menurut Sardi *et al.* (2013) *C.albicans* adalah agen penyebab infeksi pada manusia. Sebagian besar biofilm *C.albicans* kurang rentan terhadap agen antimikroba daripada sel planktonik (Rajendran *et al.*, 2010). Menurut Biswas dan Chaffin (2005) *C.albicans* dapat tumbuh pada suhu 37 °C pada kondisi aerob atau anaerob, yang lebih panjang yaitu 248 menit dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. Pertumbuhan *C.albicans* lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau basa. Menurut Mutiawati (2016) Sel jamur dan *germ tubes* memiliki komposisi dinding sel yang serupa, meskipun jumlah α -glucans, kitin, dan mannan relatif bervariasi karena faktor morfologinya. Jumlah *glucans* jauh lebih banyak dibanding *mannan* pada *C.albicans* yang secara imunologis memiliki keaktifan yang rendah. Struktur dinding *C.albicans* secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 2.3a dan 2.3b di bawah ini.



2.4 (a) Struktur dinding *C.albicans* dan (b) Bentuk mikroskopis *C.albicans*(Larone, 1986)

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu Pelaksanaan dimulai pada bulan Oktober 2018 –Juni 2019.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi neraca analitik (MATRIX type Esj 210-4B), blender (Phillips), *water bath* (Memert D-91126, Jerman), *rotary evaporator* (Butchi Jerman), lap bersih, gelas ukur 500 ml (Pyrex, Jerman), spatula dan kertas saring yang digunakan untuk proses ekstraksi daun tembakau. Beberapa alat lain yang digunakan untuk pengujian seperti cawan petri (Pyrex, Jerman), tabung reaksi (Pyrex, Jerman), pipet (Supertek, made in Switzerland), pi-pump, spektrofotometer (Thermo Scientific 10S Series UV-Visible Spectrofotometers USA), lemari pendingin (Toshiba), pipet mikro (Biohit 12636255, Jerman), laminar air flow (Crumair, Spanyol), autoklaf (Hirayama HL 36, Jepang), inkubator (Haraeus InstB6200, Jerman), *colony counter* (Stuart Scientific)

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan yaitu daun tembakau kasturi inferior yang didapatkan dari petani rakyat Jember. Bahan yang digunakan untuk proses ekstraksi daun tembakau diantaranya yaitu etanol 96% dan air panas dengan suhu 90°C. Bahan yang digunakan untuk pengujian yaitu seperti aquades, Na₂CO₃ 7%, media TPA (*Tryptic Soy Agar*), media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*), DMSO (Dimethyl Sulfoxide) 2%, DPPH (*1,1 diphenyl-1-2-Picrylhidrazil*), reagen *Follin-Ciocalteu*. Bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi dan *Candida albicans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan satu sampel dengan dua faktor yaitu perbedaan jenis pelarut ekstraksi (air dan etanol) dan konsentrasi ekstrak daun tembakau dalam uji antimikroba (0 ml; 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; dan 1 ml). Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian menggunakan dua rancangan yang disajikan pada Tabel 3.1 dan tabel 3.2.

3.1 Rancangan Percobaan Ekstrak Daun Tembakau

| Pelarut | Perlakuan | |
|-----------------|-----------|--------|
| | Air | Etanol |
| P0 (Air Panas) | 450 ml | 0 ml |
| P2 (Etanol 80%) | 75 ml | 375 ml |

3.2 Rancangan Pengujiann Antimikroba Ekstrak Daun Tembakau

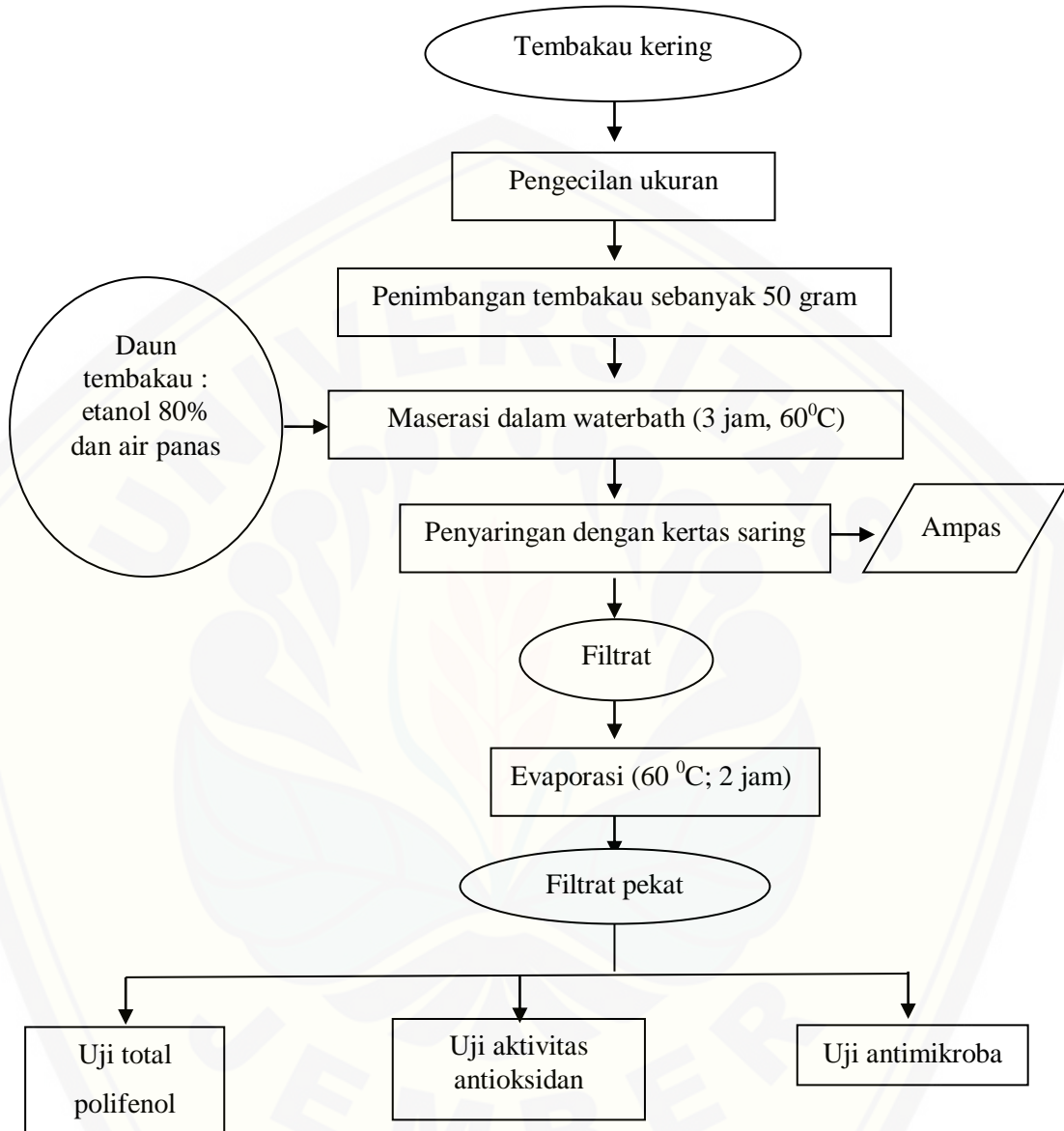
| Perlakuan | Jenis Mikroba | |
|-----------------------|-----------------------------|-------------------------|
| | <i>Streptococcus mutans</i> | <i>Candida albicans</i> |
| Ekstrak Tembakau (ml) | 0 | 0 |
| | 0,2 | 0,2 |
| | 0,4 | 0,4 |
| | 0,6 | 0,6 |
| | 0,8 | 0,8 |
| | 1 | 1 |
| DMSO 2% (μ l) | 20 | 0 |

3.4 Tahap Prosedur Penelitian

1. Proses Ekstraksi

Prosedur ini diawali dengan pengecilan ukuran daun tembakau yang sudah kering. Selanjutnya daun tembakau yang telah halus ditimbang sebanyak 50 gram, lalu dimasukan kedalam erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan etanol (0 dan 80%) sebanyak 450 ml perlakuan ini dilakukan sebanyak dua kali. Tahap berikutnya, dilakukan ekstraksi menggunakan *shaker waterbath* dengan suhu 60°C selama 3 jam. Setelah itu dilakukan penyaringan untuk memisahkan supernatan dengan filtratnya. Filtrat yang diperoleh kemudian di *rotary evaporator* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang didapatkan kemudian diuji total polifenol dan aktivitas antioksidannya, lalu dilakukan uji aktivitas

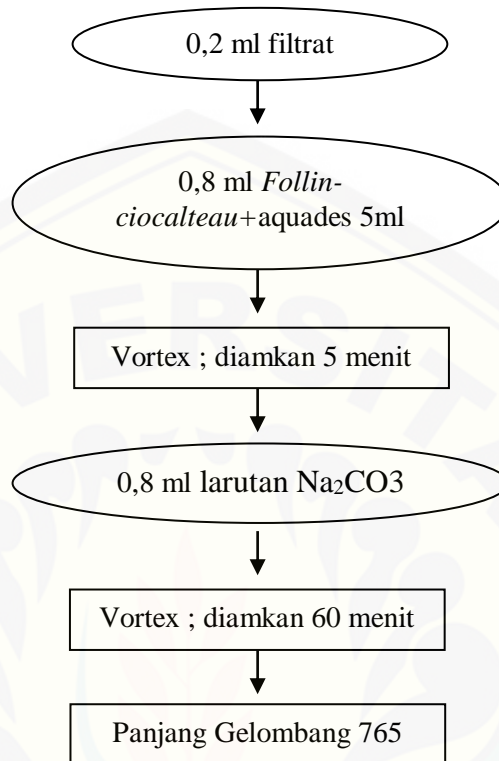
antimikroba terhadap *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. Proses pembuatan ekstrak daun tembakau kasturi di sajikan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram alir pembuatan ekstrak daun tembakau kasturi(Shekins *et al.*, 2016)

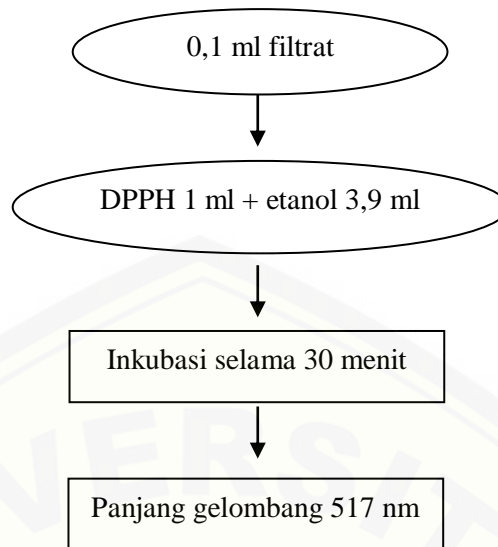
Filtrat hasil esktraksi diambil sebanyak 0,2 ml dimasukan pada tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,8 ml *Follin-ciocalteau* dan 5 ml. Sampel divortex hingga tercampur merata, lalu didiamkan selama 5 menit. Larutan NaCO_3 7% ditambahkan sebanyak 0,8 ml. Sampel divortex hingga tercampur, didiamkan selama 60 menit. Sampel yang sudah didiamkan selama 60 menit, lalu

di ukur menggunakan panjang gelombang absorbansi 765. Pengujian total polifenol dengan metode *Follin-ciocalteau* seperti pada Gambar 3.2.



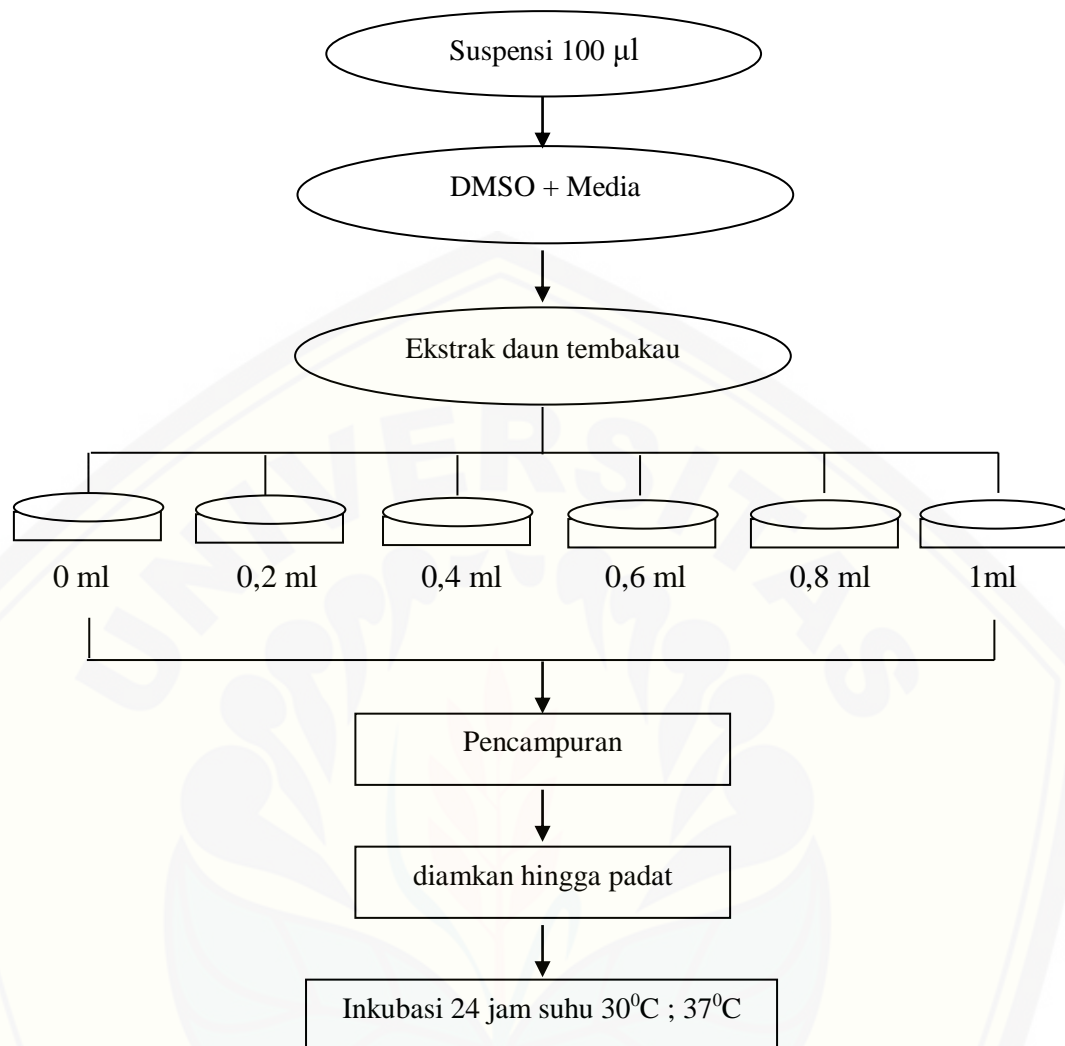
Gambar 3.2 Diagram alir uji total polifenol ekstrak daun tembakau kasturi

Filtrat hasil ekstraksi dari daun tembakau kasturi dilakukan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui mengetahui antioksidan yang ada dalam ekstrak. Filtrat daun tembakau kasturi di ambil sebanyak 0,1 ml, lalu dilakukan penambahan DPPH (*1,1-diphenyl-1-2-Picrylhidroksil*) sebanyak 1 ml dan etanol sebanyak 3,9 ml. Penambahan DPPH (*1,1-diphenyl-1-2-Picrylhidroksil*) bertujuan untuk mengetahui tingkat antioksidan yang ada pada sampel. Sampel akan bereaksi dengan DPPH (*1,1-diphenyl-1-2-Picrylhidroksil*), hal ini ditandai dengan perubahan warna pada sampel dari ungu menjadi kuning. Sampel didiamkan dalam keadaan gelap selama 30 menit, lalu di ukur menggunakan panjang gelombang absorbansi 517. Uji aktivitas antioksidan disajikan pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Diagram alir uji aktivitas antioksidan ekstrak daun tembakau kasturi

Filtrat hasil ekstraksi di selanjutnya di uji aktivitas antimikroba. Filtrat hasil ekstrak tembakau dibuat dengan berbagai konsentrasi. Pada pengujian aktivitas antimikroba awalnya dilakukan pengenceran terhadap suspensi yang digunakan. Suspensi hasil pengenceran dicuplik sebanyak 100 μ l, kemudian dimasukkan kedalam cawan petri. DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) ditambahkan kedalam cawan petri, lalu ditambahkan media. Cawan petri ditambahkan ekstrak daun tembakau kasturi dengan berbagai konsentrasi, lalu dilakukan pencampuran untuk meratakan isi yang ada didalam cawan petri. Inkubasi dilakukan selama 24 jam dengan suhu 30⁰C untuk *C.albicans* dan 37⁰C *S.mutans*. Hasil inkubasi dihitung menggunakan *Colony Counter* untuk mengetahui total mikroba. Proses uji antimikroba ekstrak daun tembakau disajikan pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4 Diagram alir uji antimikroba ekstrak daun tembakau kasturi

3.5 Prosedur Pengamatan

1. Uji Polifenol

Analisa total polifenol ditentukan secara spektrofotometri menggunakan metode *Follin-ciocalteu* (Singelton dan Rossi dalam Othman *et.al*, 2005). Pembuatan kurva standar untuk perhitungan polifenol dibuat dengan cara menggunakan larutan asam galat dalam metanol (5,4 mg galid acid/5ml). Larutan asam galat di stirrer selama 5-10 menit dan ditera sampai mencapai 10 ml. Siapkan 9 tabung reaksi yang masing-masing diisi dengan asam galat dengan jumlah pengambilan (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, dan 400 µl) dan tambahkan aquades sampai 5 ml. Lalu ditambahkan 0,8 ml reagen *Follin-*

Ciocalteu 10% pada masing-masing tabung reaksi. Kemudian dilakukan pengocokan menggunakan vorteks dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,8 ml larutan Na_2CO_3 7% . Kemudian tabung reaksi yang berisi larutan kurva standar tersebut dibungkus atau ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan ditempat gelap selama 60 menit, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 765 nm.

Pada penelitian ini sampel yang diuji berbentuk cairan. Sebanyak 0,4 ml sampelelektak tembakau (sudah diencerkan 1/500 – 1/1000), ditambahkan 0,8 ml reagen *Follinciocalteau* 10% dan aquades sebanyak 5 ml, kemudian dilakukan pengocokan menggunakan vorteks dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya tambahkan 0,8 ml larutan Na_2CO_3 7% lalu divortex dan diamkan selama 60 menit dengan cara ditutup semua lapisan tabung reaksi menggunakan aluminium foil. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 765 nm.

Analisis kandungan total polifenol pada sampel dihitung berdasarkan kurva standar asam galat yang diperoleh. Rumus yang digunakan untuk menghitung total polifenol yaitu :

Kandungan Total Polifenol (mg GAE/ml) = C x fp x BM

keterangan :

C = konsentrasi fenolik (nilai x)

Fp = faktor pengenceran

BM = konversi berat molekul asam galat

2. Uji Antioksidan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode serapan radikal DPPH (*1,1-diphenyl-1-2-Picrylhidroksil*). Mula-mula persiapan bahan uji ini dilakukan dengan cara ekstrak daun tembakau sebanyak 0,1 ml diencerkan menjadi 1 ml menggunakan aquades. Tahap selanjutnya yaitu pembuatan larutan pereaksi yang diawali dengan penimbangan serbuk DPPH sebanyak 0,00389 gram, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas, sehingga akan didapatkan larutan DPPH dengan konsentrasi 0,4 mM. Tahap pengujian aktivitas antioksidan

dilakukan dengan cara sebanyak 0,1 ml ekstrak daun tembakau yang telah diencerkan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 ml DPPH 0,4 mM dan 3,9 ml etanol. Selanjutnya divortex dan didiamkan selama 30 menit dengan ditutup menggunakan aluminium foil dan ditempatkan pada tempat gelap. Dilakukan pendiaman selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Blanko dibuat dengan cara mengganti sampel dengan aquades. Aktivitas antioksidan dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

3. Uji Antimikroba Ekstrak Daun Tembakau Metode KHM

a. Persiapan alat

Alat yang digunakan dalam uji antimikroba dibersihkan, kemudian semua alat dan bahan yang akan digunakan di autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121 °C kecuali ekstrak polifenol dan cawan petri.

b. Pembuatan media TSA (*Tryptic Soy Agar*)

Media yang digunakan untuk pertumbuhan *Streptococcus mutans* yaitu media kultur TSA (*Tryptic Soy Agar*). Cara pembuatan media dengan cara memanaskan 100 ml aquades didalam erlenmeyer untuk 4 gram bubuk TSA. Tambahkan aquades yang telah panas pada bubuk TSA dan lakukan pengadukan. Media yang telah dibuat disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit dan dibiarkan pada suhu 45°C

c. Pembuatan media SDA (*Sabouround's Dextrose Agar*)

Media yang digunakan untuk pertumbuhan *Candida albicans* maka diperlukan media kultur SDA (*Sabouround's Dextrose Agar*) dengan cara memanaskan 100 ml aquades didalam erlenmeyer untuk 6,5 gram bubuk SDA. Tambahkan aquades yang telah panas pada bubuk SDA dan dilakukan pengadukan. Media yang telah dibuat disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit dan dibiarkan pada suhu 45°C

d. Pembuatan Isolat Bakteri dan Jamur

1. Isolat bakteri

Preparasi biakan bakteri, diawali dengan sebanyak 1 ose kultur murni bakteri *Streptococcus mutans* ditempelkan pada media miring agar TSA sebanyak 5 ml dengan pola zig-zag. Setiap perlakuannya dilakukan dalam keadaan steril didekat nyala api bunsen. Biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2. Isolat jamur

Preparasi biakan jamur, diawali dengan sebanyak 1 ose kultur murni jamur *Candida albicans* ditempelkan pada media miring agar SDA sebanyak 5 ml dengan pola zig-zag. Setiap perlakuannya dilakukan dalam keadaan steril didekat nyala api bunsen. Biakan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam.

e. Pembuatan Suspensi Media Bakteri dan Jamur

1. Suspensi *Streptococcus mutans*

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan jarum ose steril sebanyak 2 ose lalu disuspensikan ke dalam ependorf yang berisi 1 ml aquades stereril. Suspensi bakteri dihomogenkan dengan di vortex lalu dicuplik sebanyak 0,1 ml disuspensikan ke dalam ependorf yang berisi 0,9 ml aquades steril. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^{-5} yang akan digunakan dalam pengujian antimikroba.

2. Suspensi *Candida albicans*

Mikroba uji yang telah diinokulasi diambil dengan jarum ose steril sebanyak 2 ose lalu disuspensikan ke dalam ependorf yang berisi 1 ml aquades stereril. Suspensi bakteri dihomogenkan dengan di vortex lalu dicuplik sebanyak 0,1 ml disuspensikan ke dalam ependorf yang berisi 0,9 ml aquades steril. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^{-5} yang akan digunakan dalam pengujian antimikroba.

g. Pembuatan Larutan Uji

Mula-mula yaitu membuat larutan stok dengan konsentrasi 20%, dengan cara mengambil ekstrak pekat daun tembakau sebanyak 2 ml lalu dimasukkan kedalam labu ukur dan ditambahkan aquades hingga batas. Larutan stok yang telah dibuat kemudian diambil secara berurut-urut sebanyak 0, 200, 400, 600, 800,

dan 1000 μ l. Dilakukan penambahan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) masing-masing sebanyak 20 μ l.

h. Uji Aktivitas Antimikroba metode Metode Dilusi Padat Agar

Uji aktivitas antimikroba daun tembakau dilakukan untuk menentukan KHM dan nilai IC_{50} pada mikroba *Streptococcus mutasn* dan *Candida albicans* menggunakan metode dilusi agar. Mula-mula sebanyak 100 μ l suspensi bakteri dimasukkan ke masing-masing cawan petri. Larutan uji yang telah dibuat dengan berbagai konsentrasi ditambahkan kedalam cawan petri tersebut, lalu ditambahkan media SDA dan TSA sebanyak 5 ml pada masing-masing cawan petri. Dilakukan pergerakan untuk meratakan dan diamkan hingga memadat lalu diinkubasi selama 24 jam suhu 30°C. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni pada cawan petri menggunakan *colony counter*.

3.7 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan disusun dalam tabel *Microsoft Excel 2007*, kemudian disajikan dalam bentuk grafik. Hasil data diinterpretasikan sesuai dengan pengamatan yang dilakukan.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun tembakau yaitu senyawa fenolik berupa polifenol. Kandungan total polifenol yang terkandung dalam ekstrak daun tembakau kasturi dengan pelarut air sebesar 50,42 mg GAE/ml dan ekstrak daun tembakau pelarut etanol sebesar 64,22 mg GAE/ml.
2. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan ekstrak daun tembakau dengan pelarut etanol lebih besar dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun tembakau pelarut air dengan nilai Aktivitas antioksidan (%) berturut-turut yaitu 71,56% dan 54,14%.
3. Ekstrak daun tembakau kasturi bersifat sebagai antimikroba dengan menghambat pertumbuhan mikroba *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. Sifat antimikroba yang dihasilkan ekstrak daun tembakau dengan pelarut etanol lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak daun tembakau kasturi dengan pelarut air.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, perlu dilakukan indentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun tembakau yang di ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan air.

DAFTAR PUSTAKA

- Adindaputri, Z., purwanti, N., Wahyudi. I. A. 2013. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia Swingle*) Konsentrasi 10% terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. *Maj Ked Gi*. Vol 20(2):126-131
- Ahmed, B. 2007. *Chemistry of Natural Products*. New Delhi: Department of Pharmaceutical Chemistry Faculty of Science JamiaHamdard.
- Albuquerque A. J. R., Silva, P. M.F., Cavalcante, A. L. F.A. dan Sampaio, F.C. 2013. *Polyphenols as A Source of Antimicrobial Agents against Human Pathogens*. ISBN: 978-1-62417-534-3. Brazil : Nova Science Publisher Inc.
- Anamudu, CK., Nwachukwu, MI., Obasi CC., Nwachukwu, IO., dan Ihenetu, FC. 2019. Antimicrobial Activities of Extracts of Tobacco Leaf (*Nicotiana tabacum*) and Its Grounded Snuff (Utaba) on *Candida albicans* and *Streptococcus pyogenes*. *Journal of Tropical Diseases* Vol.7.
- Aziz, T., S. Febrizky, dan A. D. Mario. 2014. *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yield Alkaloid Dari Daun Salam India (Murraya Koenigii)*. Palembang: Universitas Sriwijaya.
- Badriyah, Achmadi, J., dan Nuswantara, L.K. 2017. Kelarutan Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) di Dalam Rumen Secara In Vitro. *Jurnal Peternakan Indonesia* Vol. 19 (3) : 116-121. Semarang : Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.
- Budhiyanti, S.A., S. Raharjo, D.W. Marseno dan I.Y.B. Ielana. 2012. Antioxidant Activity of Brown Algae Sargassum Species Extract from the Coastline of Java Island. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*., 7(3): 337–346.
- Biswas, S.K dan Chaffin, W.L., 2005. Anaerobic Growth of *C. albicans* Does Not Support Biofilm Formation Under Similar Conditions Used For Aerobic Biofilm, *Curr. Microbiol*, 51(2), 100-104.
- Berlian, Z., Aini, F., dan Lestari, W. 2016. Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum L.*) terhadap Fungi *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Jurnal Biota* Vol. 2 (1).
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick dan Adelberg's. 2007. *Medical Microbiology*, Ed ke-26. New York: McGraw Hill

- Chew KK, Ng SY, Thoo YY, Khoo MZ, Wan Aida WM, dan Ho CW. 2011. Effect of Ethanol Concentration, Extraction Time and Extraction Temperature on the Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of *Centella asiatica* Extracts. *International Food Research Journal* 18: 571- 578.
- Cowan MM. 1999. Plant product as antimicrobial agents. *Clin Micr Rev*, Vol. 12 (4): 564-568.
- Cushnie, T., dan Lamb, A. J. 2005. Review : Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 26: 343-356.
- Departemen Kesehatan . 2004. *Data Tembakau Indonesia* . Jakarta : Data Empiris untuk strategi pengendalian tembakau Nasional
- Dewi, Z.Y, Nur, A, dan Hertriani, T. Efek Antibakteri Dan Penghambatan Biofilm Ekstrak Sereh (*Cymbopogon nardus L.*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Maj Ked Gi Ind. Desember 2015; 1(2): 136 – 141p-ISSN 2460-0164e-ISSN 2442-2576*.
- Dewi, C., Utami, R., dan Riyadi, N.H. 2012. Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Ekstrak Melinjo (*Gnetum gnemon L.*). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, Vol. V, No. 2
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia 2015-2017 TEMBAKAU*. Jakarta: Sekertariat Direktorat Jenderal Perkebunan Kementrian Pertanian
- Donchave, M dan Dagnon, S. Polypenols in Tobacco Extract Obtained By Macroporous Resin. *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences Tome 68, No 2,*
- Erindyah, R.W. dan Maryati. 2003. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Pinus Terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Jurnal Farmasi Indonesia. Pharmacon 4(1):20-24*
- Handayani. F., Sundu. R., dan Sari. R.M. 2017. Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus Mutans* dari Sediaan *Mouth wash* Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*). *Jurnal Sains dan Kesehatan. 2017. Vol 1. No 8. p-ISSN: 2303-0267, e-ISSN: 2407-6082*
- Haryoto, S., N. Broto, dan Hafidz. 2007. Aktivitas Antioksidan Fraksi Polar Ekstrak Metanol dari Kulit Kayu Batang *Shorea acuminatissima* dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmu Dasar. 8(2): 158 – 164.*

- Herminingsih, H. 2014. Hubungan Adaptasi Petani Terhadap Perubahan Iklim Dengan Produktivitas Tembakau pada Lahan Sawah dan Tegalan Di Kabupaten Jember. *JSEP*. 7(2): 31-44.
- Hammado, N., dan I. Illing. 2013. Identifikasi Senyawa Bahan Aktif Alkaloid pada Tanaman Lahuna (*Eupatorium odoratum*). *Jurnal Dinamika*. 4(2): 1 – 18.
- Izzren, N. Q. and Fadzelly, M. 2013. Phytochemical and Antioxidant Properties of Different Part of *Camellia sinensis* leaves from Sabah Tea Plantation in Sabah, Malaysia. *International Food Research Journal*. 20 (1) : 307-312.
- Jurian, V.Y, Suwasono, S, dan Fauzi, M. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Murbei (*Morus Alba*) Terhadap *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Nasional Apta*.
- Larone DH.1986. *Medical Important Fungi A Guide to Identification*. 2nd ed. New York.:19,54,173-185.
- Madduluri, Suresh. Rao, K.Babu. dan Sitaram, B. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.2013:5(4): 679-684.
- Misnawi, Sumartono, Wahyudi, Ismayadi, Riyanto, dan Zakaria. 2008. “Aspek Kesehatan Biji Kakao dan Hasil-Hasil Penelitiannya (*Health Aspects of Cocoa Beans and Recent Result of Research*)”. [Makalah]. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Mutiawati, V.K. 2016. Pemeriksaan Mikrobiologi Pada *Candida albicans*. *JKS* ; 1: 53-63
- Muchtadi, D. N.S. Palupi dan Astawan. 1992. *Metode Kimia, Biokimia dan Biologi dalam Evaluasi Gizi Pangan Olahan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi.IPB..246 hal.
- Munte, Liliyanti., M. R. Runtuwene, dan G. Citraningtyas. 2015. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Prasman. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4(3): 41 – 50.
- Mukhriani. 2014. Esktraksi, Pemisahan Senyawa, dan Indentifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan VolVII No. 2*.
- Nugraha AW. 2011. *Streptococcus mutans Si Plak Dimana Mana*. Pharm USD: Yogyakarta.

- Novianti ND. 2012. Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan *Artemia salina* dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Jambo-jambo (*Kjelbergiodendron celebicus*). [Skripsi]. Universitas Indonesia
- Ncube, N. S., A. J. Afolayan, dan A. I. Okoh. 2008. Assessment Techniques of Antimicrobial Properties of Natural Compounds of Plant Origin: Current Methods And Future Trends. *African Journal of Biotechnology*. 7(2): 1797 – 1806.
- Nychas GJE, Tassou CC. 2000. Traditional preservatives-oils and spices. *African Crop Sci J.* ; 18(1): 15–22.
- Orak, H. 2006. Total Antioxidant Activities, Phenolics, Anthocyanins, Polyphenoloxidase Activities in Red Grape Varieties. *Electronic Journal of Polish Agricultural University Food Science and Technology*. 9: I17 – 118.
- Othman, A., Ismail, A., Ghani, N., dan I. Adenan. 2007. Antioxidant Capacity And Phenolic Content of Cocoa Beans. *Food Chemistry* 100 (2007) : 1523-1530.
- Panjaitan, M. P., A. H. Alimuddin, dan Adhitiyawarman. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Ceria (*Baccaureahookeri*). *Jurnal JKK*. 3(1): 17 – 21.
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S., dan Kuswanto, K.R. 2007. Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak produk Gambir (*Uncaria gambir roxb*). *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 141 – 146.
- Putri, R. H., Barid, I., dan Kusumawardani, B. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Stomatognatic (J. K. G Unej)* Vol. 11 No.2 2014: 27-31
- Prawira, J., Momuat, L., dan Kamu, V. 2015. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Heksana dari Daun Gedi Merah (*Albelmoschus Manihot*). *Jurnal Mipa Unsrat Online* 4 (1) 5-9.
- Prayoga, R. D. 2010. “Pemanfaatan Biji Kakao Untuk Produksi Polifenol Sebagai Senyawa Antibakteri”. Tidak Dipublikasikan. [Skripsi]. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknik Pertanian Universitas Jember
- Rajendran, R, S. Hemalatha, K. Akasakalai dan R.M. Sundaran. 2010. Hepatoprotective activity of *Mimosa Pudica* Leave extract againts Carbontetracloride Induced Toxycity. *Jurnal of Natural Product*, (2);116-122

- Rafsanjani, M. K. dan Putri, W. D. R. 2015. Karakteristik Ekstrak Kulit Jeruk Bali Menggunakan Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Perbedaan Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (4) : 1473-1480.
- Ramandanu, Rachmawati, S.H., dan Lestari, S.D. 2014. Pengujian Aktivitas Antioksidan Estrak Buah Lotsus (*Nelumbo Nucifera*). *Fishtech Volume III, No. 01*.
- Rivai,H., Widiya, E., dan Rusdi. 2013. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-air Terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total dan Daya Antioksidan Dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 18, No.1, 2013, halaman 35-42*
- Reidy, J.T., Mc Hugh, E.E., dan Stassen, L.F.A. 2011. A Review Of The Role Of Alcohol In The Pathogenesis of Oral Cancer And The Link Between Alcoholcontaining Mouthrinses And Oral Cancer. *Journal of the Irish Dental Association*. Vol.4 No.57 p: 200-202.
- Rosidah, A. N., Lestari, P. E., dan Astuti, P. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hipobroma langiflora [L] G. Don*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.
- Salim, M., Yahya, Sitorus, H., Ni'mah, T., dan Marini. 2016. Hubungan Kandungan Hara Tanah dengan Produksi Senyawa Metabolit Sekunder pada Tanaman Duku (*Lansium domesticum Corr var Duku*) dan Potensinya sebagai Larvasida. *Jurnal Vektor Penyakit, Vol. 10 No. 1, 2016 : 11– 18*.
- Sardi, J.C.O., Scorzoni,L., Bernardi,T.,Fusco, Almeida,A.M., dan Mendes Giannini, M.J.S. 2013. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, naturalantifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, 62,10–24.
- Sarker SD, Latif Z, dan Gray AI. 2006. *Natural products isolation*. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. hal. 6-10, 18.
- Sayuti, K. , dan Rina Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang : Andalas Univesity Press.
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis Hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal, Volume 1 No 3. ISSN: 2549-1601*





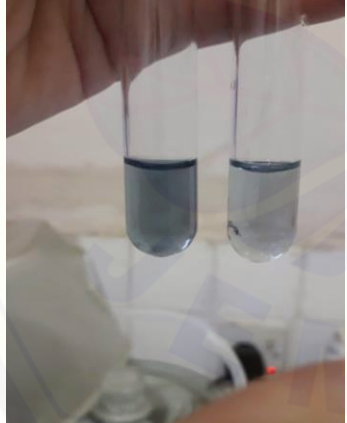
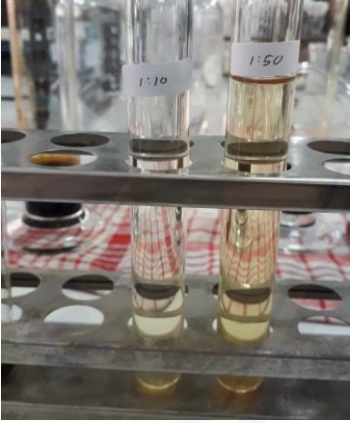
- Sabir, Ardo. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.)*. 38(3): 135 –141.
- Septiana, A. T. dan Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Jurnal Agrotek*. 6 (1).
- Septiani, V., Choirunnisa, A., dan Syam, A.K. 2017. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Karuk (*Piper sarmentosum Roxb.*) Terhadap *Streptococcus mutans* Dan *Candida albicans*. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1), 7-14. p-ISSN 2354-6565 /e-ISSN 2502-3438
- Soehendro, A.W, Manuhara, G.J, dan Nurhartadi, E. 2015. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji Melinji (*Gnetum gnemon L.*) dengan Pelarut Etanol dan Air. *Jurnal Teknosains Pangan Vol IV No. 4 Oktober 2015*. Surakarta: Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, UNS. ISSN: 2302-0733.
- Shao, L. C., Sheng, C. Q. dan Zhang, W. N. (2007). Recent Advances In The Study Of Antifungal Lead Compounds With New Chemical Scaffolds. *Yao Xue Xue Bao* 42, 1129–1136 (in Chinese).
- Shekins, O. O., E. U. Dorathy, M. L. Labaran, dan P. Joel. 2016. Phytochemical Screening of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) and its Effects on Some Haematological Parameters and Histopathology of Liver and Brain in Male Rats. *International Journal of Biochemistry Research*. 14(4): 1 – 9.
- Syarif A, Estuningtyas A, Setiawati A, Muchtar A, Arif A, dan Bahry B., 2007. *Farmakologi Dan Terapi. Edisi ke-5*. Jakarta: FKUI.
- Todar K. 2009. *The Normal Bacterial Flora of Humans* .Online textbook of Bacteriology. Accessed on 3Th november 2018. <http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html>.
- Toripah, S, S. A, Jemmy,. dan W, Frenly.2014. Aktivitas Antioksidan Dan kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lam.*). *Jurnal Ilmiah Farmasi. Manado*. 3 (4) : 37 - 43.
- Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Surabaya: Graha Ilmu
- Waterhouse, A. 1999. *Folin-Ciocalteau Micro Method for Total Phenol in Wine*. Departemen of Viticultur and Enology University of California. 28: 1 – 3.

Zhang, D., dan Hamauzu, Y., 2004, Phenolic Compounds and Theirs Antioxidant Properties in Different Tissues of Carrots (*Daucus carota L.*), *Food, Agriculture, and Environment*, 2(1): 95-100.

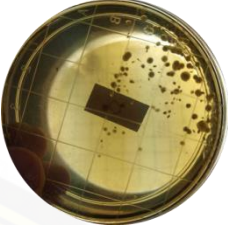
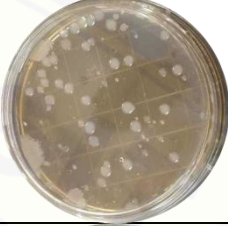
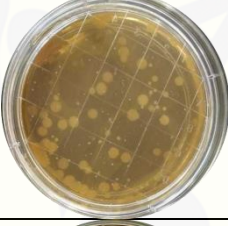
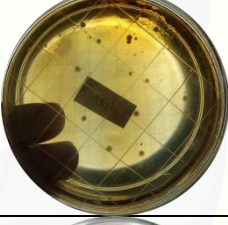
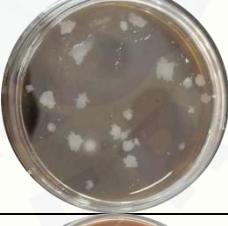



LAMPIRAN






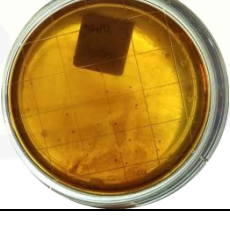
Lampiran A. Dokumentasi Foto Penelitian

| | |
|---|--|
|  |  |
| <p>Daun Tembakau Kasturi Afkir (Kering)</p> | <p>Tembakau Halus</p> |
|  |  |
| <p>Ekstrak Daun Tembakau</p> | <p>Pemekatan Ekstrak Daun Tembakau</p> |
|  |  |
| <p>Total Polifenol</p> | <p>Aktivitas Antioksidan</p> |

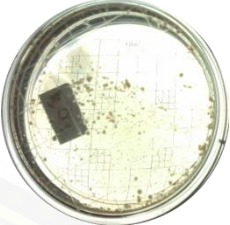
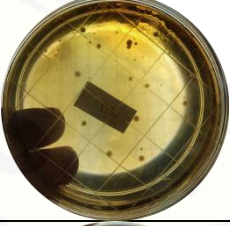
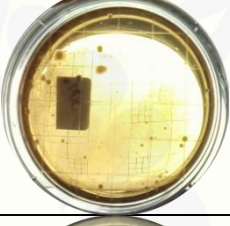
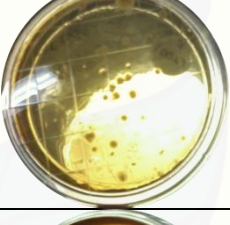
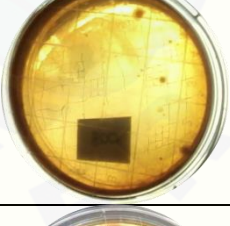
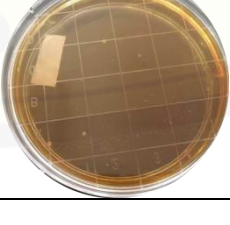
Antimikroba *C.albicans* Etanol

| No | Konsentrasi (μl) | Foto |
|----|------------------|--|
| 1 | 0 |  |
| 2 | 200 |  |
| 3 | 400 |  |
| 4 | 600 |  |
| 5 | 800 |  |
| 6 | 1000 |  |

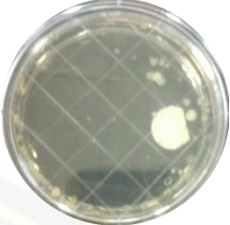
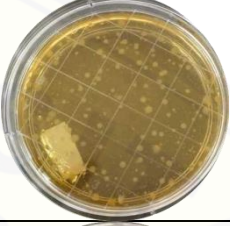

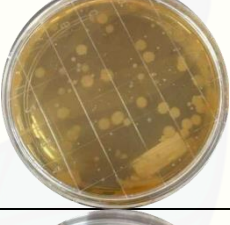
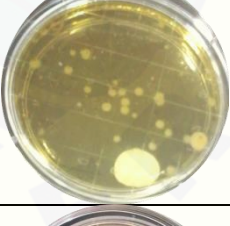
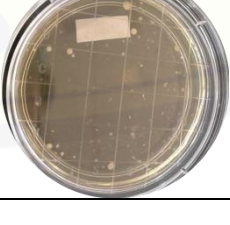
Antimikroba *C.albicans* Air

| No | Konsentrasi (μl) | Foto |
|----|------------------|--|
| 1 | 0 |  |
| 2 | 200 |  |
| 3 | 400 |  |
| 4 | 600 |  |
| 5 | 800 |  |
| 6 | 1000 |  |

Antimikroba *S. mutans* Etanol

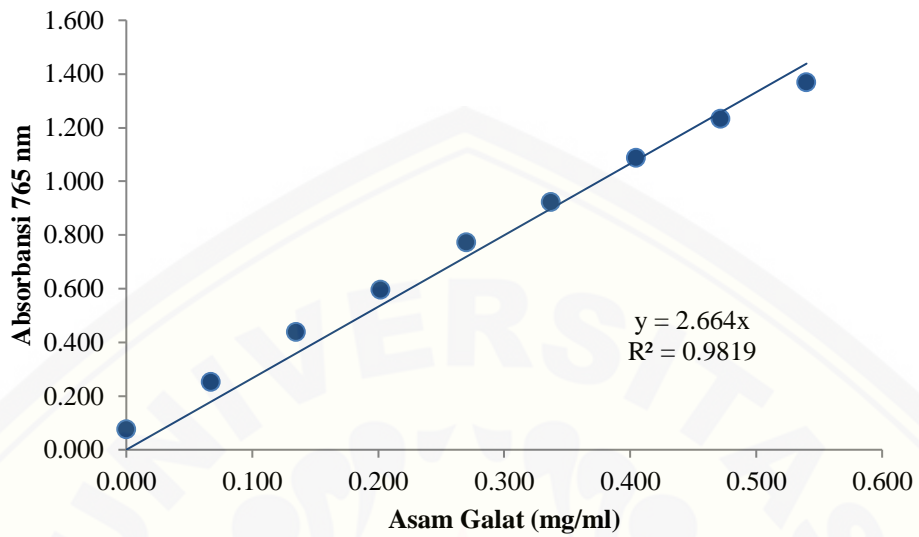
| No | Konsentrasi (μl) | Foto |
|----|------------------|--|
| 1 | 0 |  |
| 2 | 200 |  |
| 3 | 400 |  |
| 4 | 600 |  |
| 5 | 800 |  |
| 6 | 1000 |  |

Antimikroba *S. mutans* Air

| No | Konsentrasi (μl) | Foto |
|----|------------------|--|
| 1 | 0 |  |
| 2 | 200 |  |
| 3 | 400 |  |
| 4 | 600 |  |
| 5 | 800 |  |
| 6 | 1000 |  |

Lampiran B. Total Polifenol

1. Kurva Standart



| Asam Galat (mg/ml) | Abs |
|--------------------|--------|
| 0,000 | 0,0735 |
| 0,067 | 0,2505 |
| 0,135 | 0,4365 |
| 0,202 | 0,5940 |
| 0,270 | 0,7705 |
| 0,337 | 0,9200 |
| 0,405 | 1,0865 |
| 0,472 | 1,2320 |
| 0,540 | 1,3665 |

2. Total Polifenol Ekstrak Daun Tembakau

| Jenis Pelarut | Pengenceran (kali) | Ulangan | Absorbansi | Asam Galat (mg/ml) | Asam Galat (mg/ml) KONSENTRAT | Rerata Asam Galat (mg/ml) | Rerata | SD |
|---------------|--------------------|---------|------------|--------------------|-------------------------------|---------------------------|--------|----------|
| Air Panas | 500x | U1 | 0,271 | 0,10173 | 50,8634 | 50,7695 | | 0,676718 |
| | | | 0,270 | 0,10135 | 50,6757 | | | |
| | | U2 | 0,266 | 0,09985 | 49,9249 | 49,8311 | 50,58 | |
| | | | 0,265 | 0,09947 | 49,7372 | | | |
| | | U3 | 0,273 | 0,10248 | 51,2387 | 51,1449 | | |
| | | | 0,272 | 0,10210 | 51,0511 | | | |
| Etanol 80% | 500x | U1 | 0,340 | 0,12763 | 63,8138 | 63,9077 | | 0,286698 |
| | | | 0,341 | 0,12800 | 64,0015 | | | |
| | | U2 | 0,344 | 0,12913 | 64,5646 | 64,4707 | 64,22 | |
| | | | 0,343 | 0,12875 | 64,3769 | | | |
| | | U3 | 0,342 | 0,12838 | 64,1892 | 64,2830 | | |
| | | | 0,343 | 0,12875 | 64,3769 | | | |

Lampiran C. Aktivitas Antioksidan

| Jenis Pelarut | Konsentrasi | Ulangan | Blanko | Absorbansi | % Penghambatan | Rata-rata | Rata-rata | SD |
|---------------|-------------|---------|--------|------------|----------------|-----------|-----------|----------|
| Etanol 80% | 50x | U1 | 0,782 | 0,221 | 71,739 | 71,803 | 71,56 | 0,764145 |
| | | | 0,782 | 0,22 | 71,867 | | | |
| | | U2 | 0,773 | 0,226 | 70,763 | 70,699 | | |
| | | | 0,773 | 0,227 | 70,634 | | | |
| | | U3 | 0,785 | 0,218 | 72,229 | 72,166 | | |
| | | | 0,785 | 0,219 | 72,102 | | | |
| Air | 50x | U1 | 0,818 | 0,386 | 52,812 | 52,567 | 54,14 | 2,32311 |
| | | | 0,818 | 0,39 | 52,323 | | | |
| | | U2 | 0,83 | 0,359 | 56,747 | 56,807 | | |
| | | | 0,83 | 0,358 | 56,867 | | | |
| | | U3 | 0,789 | 0,37 | 53,105 | 53,042 | | |
| | | | 0,789 | 0,371 | 52,978 | | | |

Lampiran D. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan IC₅₀

Metode Kurva Probit

1. *Candida albicans*

Jumlah Koloni *Candida albicans* Ekstrak Tembakau Etanol

| Konsentrasi | Jumlah koloni 10 ⁵ | | Rata-rata | Stdev |
|-------------|-------------------------------|-----|-----------|-------|
| | U1 | U2 | | |
| 0 | 144 | 112 | 128 | 22,63 |
| 2,6 | 58 | 49 | 53,5 | 6,36 |
| 5,1 | 49 | 37 | 43 | 8,49 |
| 7,7 | 38 | 29 | 33,5 | 6,36 |
| 10,3 | 17 | 14 | 15,5 | 2,12 |
| 12,8 | 3 | 2 | 2,5 | 0,71 |

Jumlah koloni *Candida albicans* dalam CFU/ml Ekstrak Tembakau Etanol

| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 µl | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni |
|-------------|----------------------|-----------|-----------|----------|----------------|------------|
| | U1 | U2 | | | | |
| 0 | 144000000 | 112000000 | 1,28E+08 | 2,26E+07 | 0 | 8,11 |
| 2,6 | 58000000 | 49000000 | 5,35E+07 | 6,36E+06 | 58,20 | 7,73 |
| 5,1 | 49000000 | 37000000 | 4,30E+07 | 8,49E+06 | 66,41 | 7,63 |
| 7,7 | 38000000 | 29000000 | 3,35E+07 | 6,36E+06 | 73,83 | 7,53 |
| 10,3 | 17000000 | 14000000 | 1,55E+07 | 2,12E+06 | 87,89 | 7,19 |
| 12,8 | 3000000 | 2000000 | 2,50E+06 | 7,07E+05 | 98,05 | 6,40 |

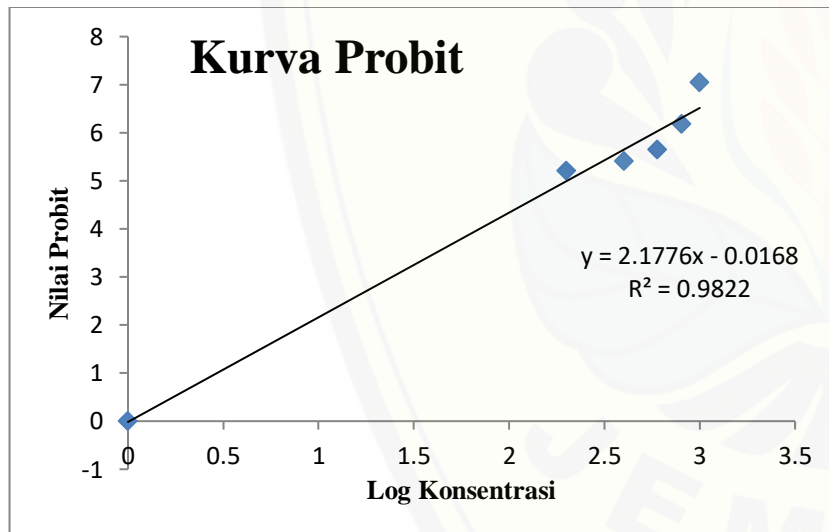
Kurva Probit

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

| % | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 0 | — | 2.67 | 2.95 | 3.12 | 3.25 | 3.36 | 3.45 | 3.52 | 3.59 | 3.66 |
| 10 | 3.72 | 3.77 | 3.82 | 3.87 | 3.92 | 3.96 | 4.01 | 4.05 | 4.08 | 4.12 |
| 20 | 4.16 | 4.19 | 4.23 | 4.26 | 4.29 | 4.33 | 4.36 | 4.39 | 4.42 | 4.45 |
| 30 | 4.48 | 4.50 | 4.53 | 4.56 | 4.59 | 4.61 | 4.64 | 4.67 | 4.69 | 4.72 |
| 40 | 4.75 | 4.77 | 4.80 | 4.82 | 4.85 | 4.87 | 4.90 | 4.92 | 4.95 | 4.97 |
| 50 | 5.00 | 5.03 | 5.05 | 5.08 | 5.10 | 5.13 | 5.15 | 5.18 | 5.20 | 5.23 |
| 60 | 5.25 | 5.28 | 5.31 | 5.33 | 5.36 | 5.39 | 5.41 | 5.44 | 5.47 | 5.50 |
| 70 | 5.52 | 5.55 | 5.58 | 5.61 | 5.64 | 5.67 | 5.71 | 5.74 | 5.77 | 5.81 |
| 80 | 5.84 | 5.88 | 5.92 | 5.95 | 5.99 | 6.04 | 6.08 | 6.13 | 6.18 | 6.23 |
| 90 | 6.28 | 6.34 | 6.41 | 6.48 | 6.55 | 6.64 | 6.75 | 6.88 | 7.05 | 7.33 |
| — | 0.0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 |
| 99 | 7.33 | 7.37 | 7.41 | 7.46 | 7.51 | 7.58 | 7.65 | 7.75 | 7.88 | 8.09 |

Kurva Probit Penghambatan Pertumbuhan *Candida albicans* Etanol

| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 µl | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni | % pertumbuhan | Log C | Probit |
|-------------|----------------------|-----------|-----------|----------|----------------|------------|---------------|-------|--------|
| | U1 | U2 | | | | | | | |
| 0 | 144000000 | 112000000 | 128000000 | 22627417 | 0 | 8,11 | 100,00 | 0,00 | 0,00 |
| 200 | 58000000 | 49000000 | 53500000 | 6363961 | 58,20 | 7,73 | 80,37 | 2,30 | 5,20 |
| 400 | 49000000 | 37000000 | 43000000 | 8485281 | 66,41 | 7,63 | 77,91 | 2,60 | 5,41 |
| 600 | 38000000 | 29000000 | 33500000 | 6363961 | 73,83 | 7,53 | 46,27 | 2,78 | 5,64 |
| 800 | 17000000 | 14000000 | 15500000 | 2121320 | 87,89 | 7,19 | 16,13 | 2,90 | 6,18 |
| 1000 | 3000000 | 2000000 | 2500000 | 707106,8 | 98,05 | 6,40 | 0,00 | 3,00 | 7,05 |



$y = 2,177 x - 0,016$
 $5 = 2,177x - 0,016$
 $5,016 = 2,177 x$
 $x = \text{LOG } 50 = 2,36939$
 $\text{Log } 50 = 2,36939$
 $\text{IC } 50 = 234,09 \mu\text{g/ml}$
 $\text{IC } 50 = 0,234 \text{ mg/m}$

$y = 2,081 x + 0,070$
 $6,28 = 2,081x + 0,070$
 $2,081x = 6,21$
 $x = \text{Log } 50 = 2,984142$
 $\text{Log } 90 = 2,984142$
 $\text{IC } 90 = 964,14 \mu\text{g/ml}$
 $\text{IC } 90 = 0,964 \text{ mg/ml}$

Ekstrak Daun Tembakau Air

Jumlah Koloni *Candida albicans* Ekstrak Tembakau Air

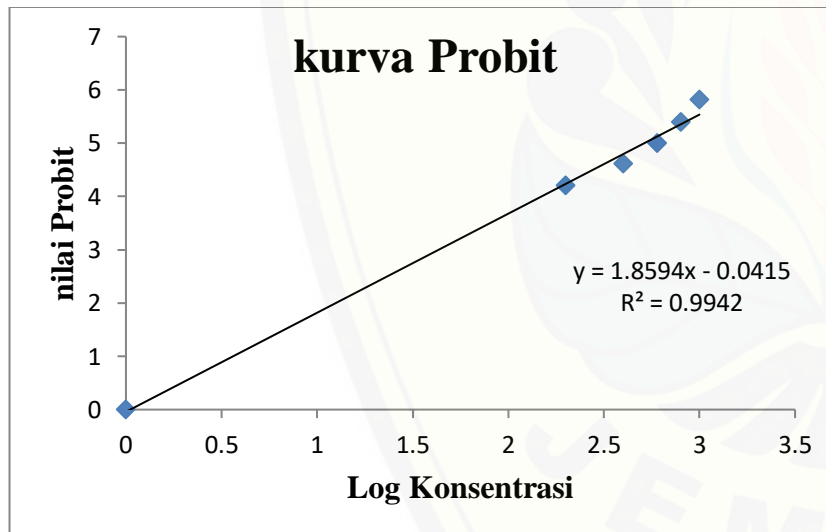
| Konsentrasi | Jumlah koloni 10 ⁵ | | Rata- rata | Stdev |
|-------------|----------------------------------|-----|---------------|----------|
| | U1 | U2 | | |
| 0 | 123 | 127 | 125 | 2,828427 |
| 2,0 | 95 | 91 | 93 | 2,828427 |
| 4,0 | 80 | 82 | 81 | 1,414214 |
| 6,1 | 60 | 67 | 63,5 | 4,949747 |
| 8,1 | 43 | 46 | 44,5 | 2,12132 |
| 10,1 | 25 | 29 | 27 | 2,828427 |

Jumlah koloni *Candida albicans* dalam CFU/ml Ekstrak Tembakau Air

| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 μ l | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni |
|-------------|---------------------------|-----------|-----------|----------|-------------------|---------------|
| | U1 | U2 | | | | |
| 0 | 123000000 | 125000000 | 124000000 | 1414214 | 0 | 8,1 |
| 1,5 | 95000000 | 93000000 | 94000000 | 1414214 | 24,2 | 8,0 |
| 2,9 | 80000000 | 81000000 | 80500000 | 707106,8 | 35,1 | 7,9 |
| 4,4 | 60000000 | 63500000 | 61750000 | 2474874 | 50,2 | 7,8 |
| 5,8 | 43000000 | 44500000 | 43750000 | 1060660 | 64,7 | 7,6 |
| 7,3 | 25000000 | 27000000 | 26000000 | 1414214 | 79,0 | 7,4 |

Kurva Probit Penghambatan Pertumbuhan *Candida albicans* Air

| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 µl | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni | % pertumbuhan | Log C | Probit |
|-------------|----------------------|-----------|-----------|----------|----------------|------------|---------------|-------|--------|
| | U1 | U2 | | | | | | | |
| 0 | 123000000 | 125000000 | 124000000 | 1414214 | 0 | 8,1 | 100,00 | 0,00 | 0 |
| 200 | 95000000 | 93000000 | 94000000 | 1414214 | 24,2 | 8,0 | 85,64 | 2,30 | 4,2 |
| 400 | 80000000 | 81000000 | 80500000 | 707106,8 | 35,1 | 7,9 | 76,71 | 2,60 | 4,61 |
| 600 | 60000000 | 63500000 | 61750000 | 2474874 | 50,2 | 7,8 | 70,85 | 2,78 | 5 |
| 800 | 43000000 | 44500000 | 43750000 | 1060660 | 64,7 | 7,6 | 59,43 | 2,90 | 5,39 |
| 1000 | 25000000 | 27000000 | 26000000 | 1414214 | 79,0 | 7,4 | 0,00 | 3,00 | 5,81 |



$y = 1,859 x - 0,041$
 $5 = 1,859x - 0,041$
 $5,041 = 1,859x$
 $x = \text{LOG } 50 = 2,711673$
 Log 50 = 2,711673
 IC 50 = 514,84 µg/ml
 IC 50 = 0,514 mg/ml

$y = 1,859x - 0,041$
 $6,28 = 1,859x - 0,041$
 $6,321 = 1,859x$
 $x = \text{Log } 90 = 3,400215$
 Log 90 = 3,400215
 IC 90 = 2513,13 µg/ml
 IC 90 = 2,513 mg/ml

2. *Streptococcus Mutans*

Ekstrak Tembakau Etanol

Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* Ekstrak Tembakau Etanol

| Konsentrasi | Jumlah koloni 10 ⁵ | | Rata- rata | Stdev |
|-------------|----------------------------------|-----|---------------|-------|
| | U1 | U2 | | |
| 0 | 227 | 217 | 222 | 7,1 |
| 2,6 | 99 | 102 | 100,5 | 2,1 |
| 5,1 | 68 | 57 | 62,5 | 7,8 |
| 7,7 | 33 | 36 | 34,5 | 2,1 |
| 10,3 | 16 | 6 | 11 | 7,1 |
| 12,8 | 6 | 2 | 4 | 2,8 |

Jumlah koloni *Streptococcus mutans* dalam CFU/ml Ekstrak Tembakau Etanol

| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 μ l | | Rata- rata | SD | % penghambatan | Log Koloni |
|-------------|---------------------------|-----------|---------------|---------|-------------------|---------------|
| | U1 | U2 | | | | |
| 0 | 227000000 | 217000000 | 2,22E+08 | 7071068 | 0 | 8,3 |
| 2,6 | 99000000 | 102000000 | 1,01E+08 | 2121320 | 54,7 | 8,0 |
| 5,1 | 68000000 | 57000000 | 62500000 | 7778175 | 71,8 | 7,8 |
| 7,7 | 33000000 | 36000000 | 34500000 | 2121320 | 84,5 | 7,5 |
| 10,3 | 16000000 | 6000000 | 11000000 | 7071068 | 95,0 | 7,0 |
| 12,8 | 6000000 | 2000000 | 4000000 | 2828427 | 98,2 | 6,6 |

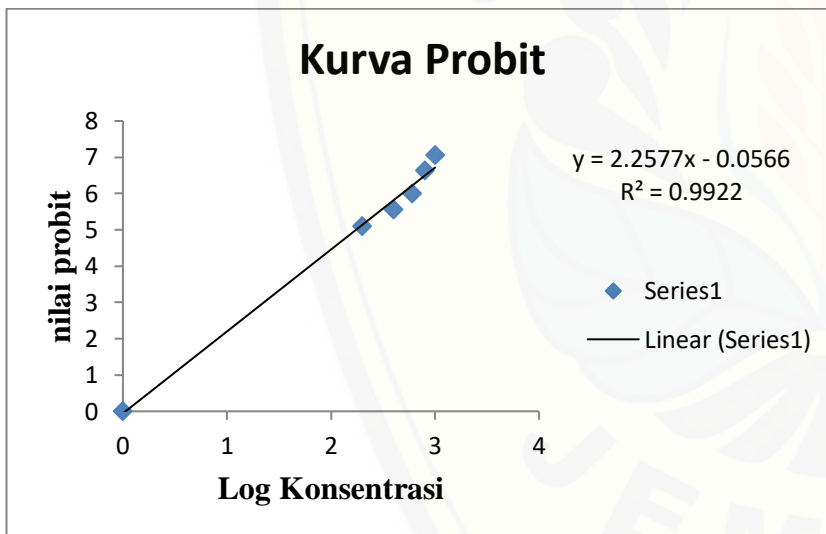
Kurva Probit

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

| % | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 0 | — | 2.67 | 2.95 | 3.12 | 3.25 | 3.36 | 3.45 | 3.52 | 3.59 | 3.66 |
| 10 | 3.72 | 3.77 | 3.82 | 3.87 | 3.92 | 3.96 | 4.01 | 4.05 | 4.08 | 4.12 |
| 20 | 4.16 | 4.19 | 4.23 | 4.26 | 4.29 | 4.33 | 4.36 | 4.39 | 4.42 | 4.45 |
| 30 | 4.48 | 4.50 | 4.53 | 4.56 | 4.59 | 4.61 | 4.64 | 4.67 | 4.69 | 4.72 |
| 40 | 4.75 | 4.77 | 4.80 | 4.82 | 4.85 | 4.87 | 4.90 | 4.92 | 4.95 | 4.97 |
| 50 | 5.00 | 5.03 | 5.05 | 5.08 | 5.10 | 5.13 | 5.15 | 5.18 | 5.20 | 5.23 |
| 60 | 5.25 | 5.28 | 5.31 | 5.33 | 5.36 | 5.39 | 5.41 | 5.44 | 5.47 | 5.50 |
| 70 | 5.52 | 5.55 | 5.58 | 5.61 | 5.64 | 5.67 | 5.71 | 5.74 | 5.77 | 5.81 |
| 80 | 5.84 | 5.88 | 5.92 | 5.95 | 5.99 | 6.04 | 6.08 | 6.13 | 6.18 | 6.23 |
| 90 | 6.28 | 6.34 | 6.41 | 6.48 | 6.55 | 6.64 | 6.75 | 6.88 | 7.05 | 7.33 |
| — | 0.0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 |
| 99 | 7.33 | 7.37 | 7.41 | 7.46 | 7.51 | 7.58 | 7.65 | 7.75 | 7.88 | 8.09 |

Kurva Probit Penghambatan Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Ekstrak Tembakau Etanol

| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 µl | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni | % pertumbuhan | Log C | Probit |
|-------------|----------------------|-----------|-----------|---------|----------------|------------|---------------|-------|--------|
| | U1 | U2 | | | | | | | |
| 0 | 227000000 | 217000000 | 222000000 | 7071068 | 0 | 8,3 | 100,00 | 0,00 | 0 |
| 200 | 99000000 | 102000000 | 100500000 | 2121320 | 54,7 | 8,0 | 62,19 | 2,30 | 5,1 |
| 400 | 68000000 | 57000000 | 62500000 | 7778175 | 71,8 | 7,8 | 55,20 | 2,60 | 5,55 |
| 600 | 33000000 | 36000000 | 34500000 | 2121320 | 84,5 | 7,5 | 31,88 | 2,78 | 5,99 |
| 800 | 16000000 | 6000000 | 11000000 | 7071068 | 95,0 | 7,0 | 36,36 | 2,90 | 6,64 |
| 1000 | 6000000 | 2000000 | 4000000 | 2828427 | 98,2 | 6,6 | 0,00 | 3,00 | 7,05 |



$y = 2,259x - 0,056$
 $5 = 2,259x - 0,056$
 $2,259 x = 5,056$
 $x = 2,238158$
 Log 50 = 2,238158
 IC 50 = 173,04 µg/ml
 IC 50 = 0,173 mg/ml

$y = 2,259x - 0,056$
 $6,28 = 2,259x - 0,056$
 $2,259x = 6,336$
 $x = 2,804781$
 Log 90 = 2,80471
 IC 90 = 637,94 µg/ml
 IC 90 = 0,637 mg/ml

Ekstrak Daun Tembakau Air

Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* Ekstrak Tembakau Air

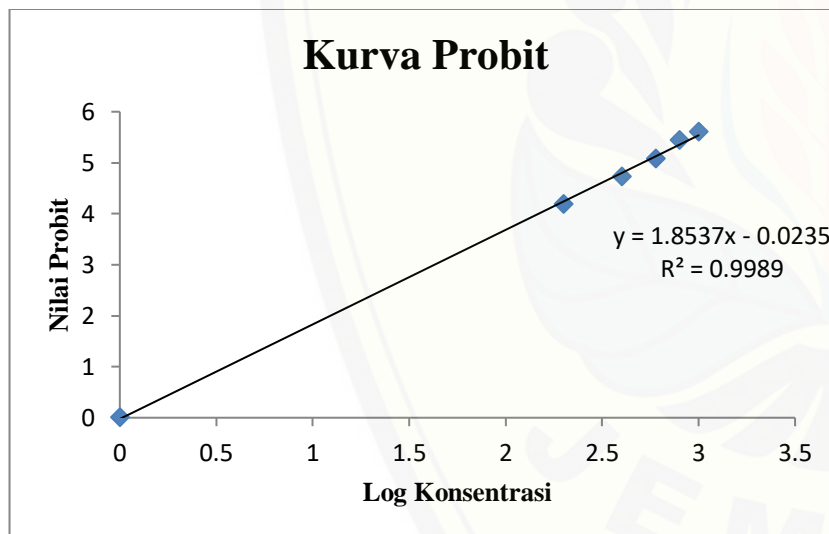
| Konsentrasi | Jumlah koloni 10 ⁵ | | Rata- rata | Stdev |
|-------------|----------------------------------|-----|---------------|----------|
| | U1 | U2 | | |
| 0 | 137 | 142 | 139,5 | 3,535534 |
| 2,6 | 108 | 111 | 109,5 | 2,12132 |
| 5,1 | 84 | 87 | 85,5 | 2,12132 |
| 7,7 | 62 | 67 | 64,5 | 3,535534 |
| 10,3 | 48 | 45 | 46,5 | 2,12132 |
| 12,8 | 39 | 33 | 36 | 4,242641 |

Jumlah koloni *Streptococcus mutans* dalam CFU/ml Ekstrak Tembakau Air

| Konsentra si | Jumlah Koloni/100 μ l | | Rata- rata | SD | % penghambat an | Log Kolo ni |
|-----------------|---------------------------|-----------|---------------|--------------|-----------------------|-------------------|
| | U1 | U2 | | | | |
| 0 | 137000000 | 142000000 | 1,40E+0 8 | 3,54E+0 6 | 0 | 8,1 |
| 2,0 | 108000000 | 111000000 | 1,10E+0 8 | 2,12E+0 6 | 21,5 | 8,0 |
| 4,0 | 84000000 | 87000000 | 8,55E+0 7 | 2,12E+0 6 | 38,7 | 7,9 |
| 6,1 | 62000000 | 67000000 | 6,45E+0 7 | 3,54E+0 6 | 53,8 | 7,8 |
| 8,1 | 48000000 | 45000000 | 4,65E+0 7 | 2,12E+0 6 | 66,7 | 7,7 |
| 10,1 | 39000000 | 33000000 | 3,60E+0 7 | 4,24E+0 6 | 74,2 | 7,6 |

Kurva Probit Penghambatan Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Ekstrak Tembakau Etanol

| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 µl | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni | % pertumbuhan | Log C | Probit |
|-------------|----------------------|-----------|-----------|---------|----------------|------------|---------------|-------|--------|
| | U1 | U2 | | | | | | | |
| 0 | 137000000 | 142000000 | 139500000 | 3535534 | 0 | 8,1 | 100,00 | 0,00 | 0 |
| 200 | 108000000 | 111000000 | 109500000 | 2121320 | 21,5 | 8,0 | 78,08 | 2,30 | 4,19 |
| 400 | 84000000 | 87000000 | 85500000 | 2121320 | 38,7 | 7,9 | 75,44 | 2,60 | 4,72 |
| 600 | 62000000 | 67000000 | 64500000 | 3535534 | 53,8 | 7,8 | 72,09 | 2,78 | 5,08 |
| 800 | 48000000 | 45000000 | 46500000 | 2121320 | 66,7 | 7,7 | 77,42 | 2,90 | 5,44 |
| 1000 | 39000000 | 33000000 | 36000000 | 4242641 | 74,2 | 7,6 | 0,00 | 3,00 | 5,61 |



$y = 1,853x - 0,023$
 $5 = 1,853x - 0,023$
 $1,853 x = 5,023$
 $x = 2,71074$
 Log 50 = 2,71074
 Ic 50 = 513,74 µg/ml
 IC 50 = 0,513 mg/ml

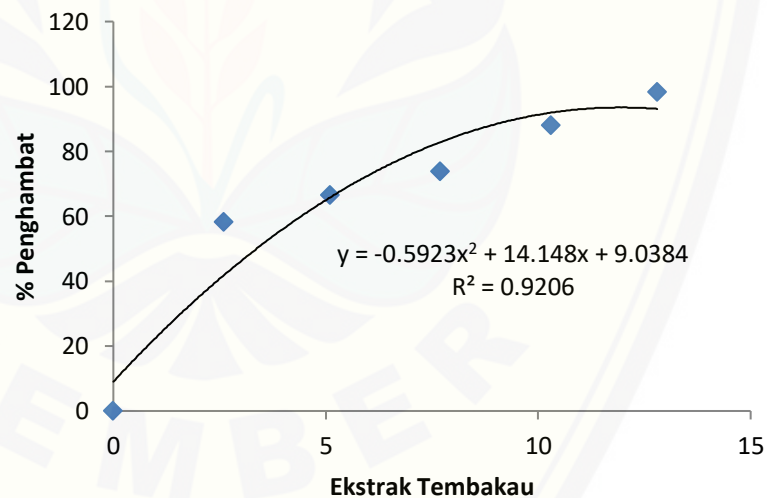
$y = 1,853x - 0,023$
 $6,28 = 1,853x - 0,023$
 $1,853 x = 6,303$
 $x = 3,401511$
 Log 90 = 3,401511
 IC 90 = 2520,641 µg/ml
 IC 90 = 2,520 mg/ml

Lampiran E. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan IC₅₀ Metode Kurva Reguler

1. *Candida albicans* etanol

| Data MIC E. coli dalam CFU/ml (10 ⁵) | | | | | | |
|--|----------------------|-----------|-----------|----------|----------------|------|
| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 µl | | Rata-rata | SD | % penghambatan | |
| | U1 | U2 | | | | |
| 0 | 144000000 | 112000000 | 1,28E+08 | 2,26E+07 | 0 | 8,11 |
| 2,6 | 58000000 | 49000000 | 5,35E+07 | 6,36E+06 | 58,20 | 7,73 |
| 5,1 | 49000000 | 37000000 | 4,30E+07 | 8,49E+06 | 66,41 | 7,63 |
| 7,7 | 38000000 | 29000000 | 3,35E+07 | 6,36E+06 | 73,83 | 7,53 |
| 10,3 | 17000000 | 14000000 | 1,55E+07 | 2,12E+06 | 87,89 | 7,19 |
| 12,8 | 3000000 | 2000000 | 2,50E+06 | 7,07E+05 | 98,05 | 6,40 |

| Polifenol (mg/ml) | % Penghambatan |
|-------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 2,6 | 58,20 |
| 5,1 | 66,41 |
| 7,7 | 73,83 |
| 10,3 | 87,89 |
| 12,8 | 98,20 |

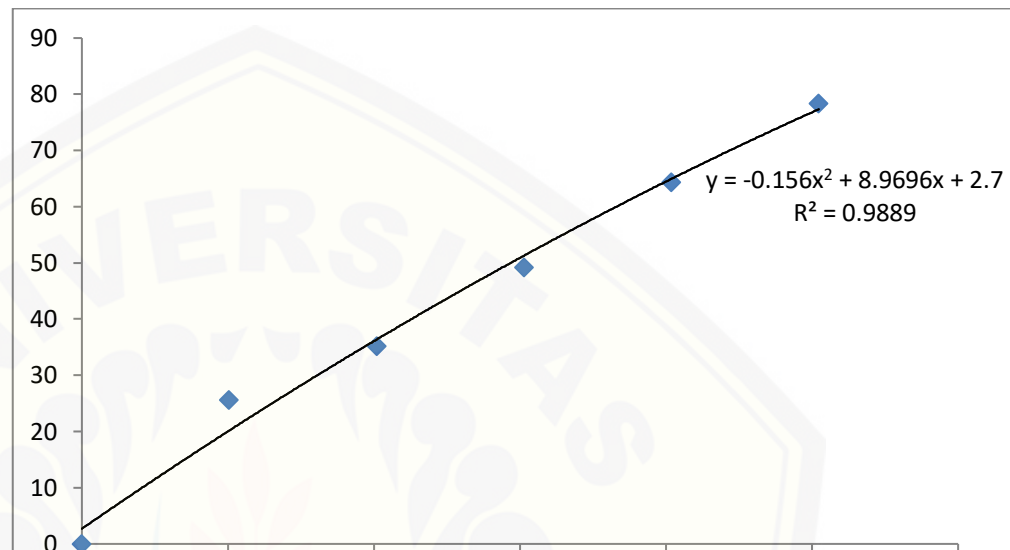


| Perhitungan IC ₅₀ <i>C.albicans</i> Pada Ekstrak etanol Polifenol Daun tembakau | Perhitungan KHM <i>C.albicans</i> Pada Ekstrak etanol Polifenol Daun Tembakau |
|---|--|
| $y = -0,592x^2 + 14,14x + 9,038$ $50\% = -0,592x^2 + 14,14x + 9,038$ $0,5 = -0,592x^2 + 14,14x + 9,038$ $0 = x^2 + 24x - 14$ $0 = (x + 24,46) (x - 0,587)$ $x_1 = -24,46 \text{ mg/ml}$ $x_2 = 0,587 \text{ mg/ml}$ | $y = -0,592x^2 + 14,14x + 9,038$ $90\% = -0,592x^2 + 14,14x + 9,038$ $0,9 = -0,592x^2 + 14,14x + 9,038$ $0 = x^2 + 23,8 - 13,6$ $0 = (x + 0,560) (x - 24,39)$ $x_1 = -0,560 \text{ mg/ml}$ $x_2 = 24,39 \text{ mg/ml}$ |

2. *Candida albicans* Air

| Data MIC <i>C. Albicans</i> dalam CFU/ml (10 ⁵) | | | | | | |
|---|---------------------------|-----------|-----------|---------|----------------|------------|
| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 μ l | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni |
| | U1 | U2 | | | | |
| 0,0 | 123000000 | 127000000 | 125000000 | 2828427 | 0 | 8,1 |
| 2,0 | 95000000 | 91000000 | 93000000 | 2828427 | 25,6 | 8,0 |
| 4,0 | 80000000 | 82000000 | 81000000 | 1414214 | 35,2 | 7,9 |
| 6,1 | 60000000 | 67000000 | 63500000 | 4949747 | 49,2 | 7,8 |
| 8,1 | 43000000 | 46000000 | 44500000 | 2121320 | 64,4 | 7,6 |
| 10,1 | 25000000 | 29000000 | 27000000 | 2828427 | 78,4 | 7,4 |

| Polifenol (mg/ml) | % Penghambatan |
|----------------------|-------------------|
| 0,0 | 0 |
| 2,0 | 25,6 |
| 4,0 | 35,2 |
| 6,1 | 49,2 |
| 8,1 | 64,4 |
| 10,1 | 78,4 |



Perhitungan IC₅₀ *C.albicans* Pada Ekstrak etanol Polifenol Daun tembakau

$$y = -0,156x^2 + 8,969x + 2,7$$

$$50\% = -0,156x^2 + 8,969x + 2,7$$

$$0,5 = -0,156x^2 + 8,969x + 2,7$$

$$0 = x^2 + 57x - 14$$

$$0 = (x + 57,73) (x - 0,244)$$

$$x_1 = -57,73 \text{ mg/ml}$$

$$x_2 = 0,244 \text{ mg/ml}$$

Perhitungan KHM *C.albicans* Pada Ekstrak etanol Polifenol Daun Tembakau

$$y = -0,592x^2 + 14,14x + 9,038$$

$$90\% = -0,156x^2 + 8,969x + 2,7$$

$$0,9 = -0,156x^2 + 8,969x + 2,7$$

$$0 = x^2 + 57x - 14$$

$$0 = (x - 0,200) (x - 57,694)$$

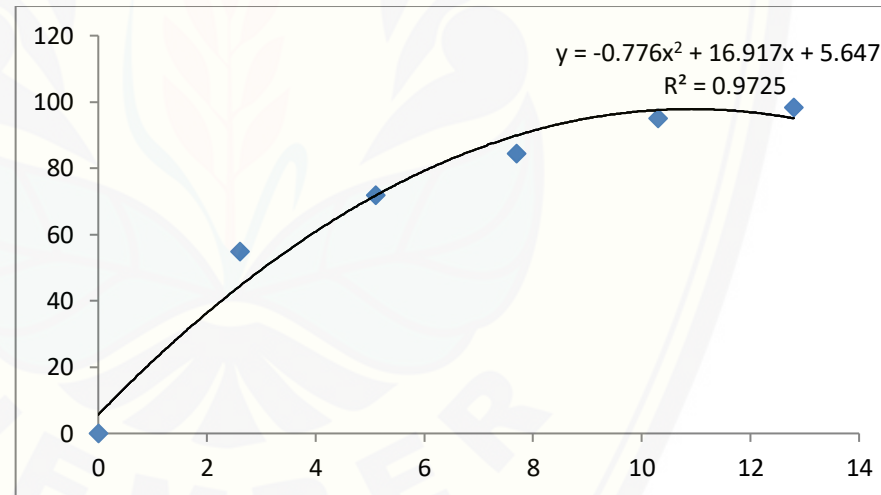
$$x_1 = -0,200 \text{ mg/ml}$$

$$x_2 = 57,69 \text{ mg/ml}$$

3. *Streptococcus mutans* Etanol

| Data MIC E. coli dalam CFU/ml (10 ⁵) | | | | | | |
|--|----------------------|-----------|-----------|---------|----------------|------------|
| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 µl | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni |
| | U1 | U2 | | | | |
| 0 | 227000000 | 217000000 | 222000000 | 7071068 | 0 | 8,3 |
| 2,6 | 99000000 | 102000000 | 100500000 | 2121320 | 54,7 | 8,0 |
| 5,1 | 68000000 | 57000000 | 62500000 | 7778175 | 71,8 | 7,8 |
| 7,7 | 33000000 | 36000000 | 34500000 | 2121320 | 84,5 | 7,5 |
| 10,3 | 16000000 | 6000000 | 11000000 | 7071068 | 95,0 | 7,0 |
| 12,8 | 6000000 | 2000000 | 4000000 | 2828427 | 98,2 | 6,6 |

| Polifenol mg/ml | % Penghambatan |
|-----------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 2,6 | 54,7 |
| 5,1 | 71,8 |
| 7,7 | 84,5 |
| 10,3 | 95,0 |
| 12,8 | 98,2 |

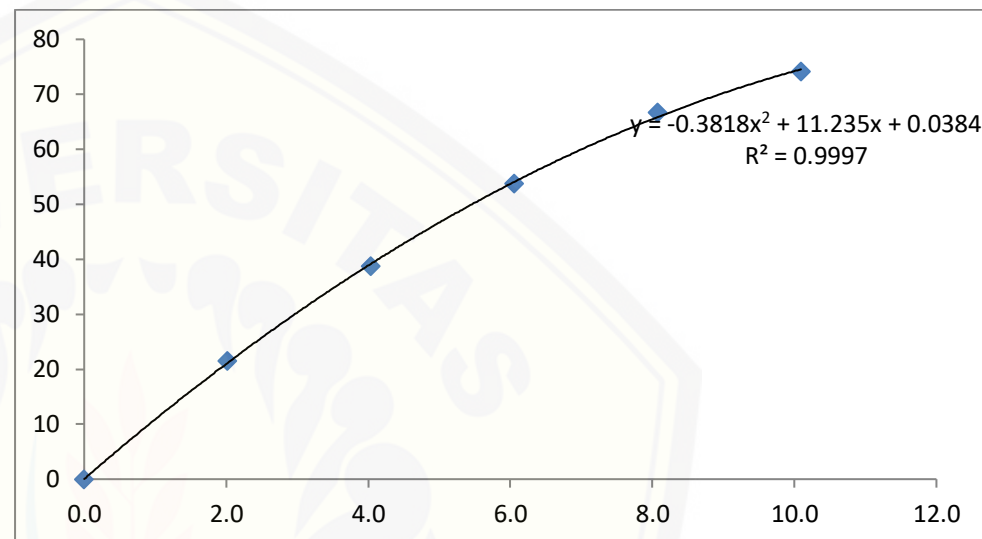


| Perhitungan IC ₅₀ <i>C.albicans</i> Pada Ekstrak etanol Polifenol Daun Tembakau | Perhitungan KHM <i>C.albicans</i> Pada Ekstrak etanol Polifenol Daun Tembakau |
|---|---|
| $y = -0,776x^2 + 16,91x + 5,6$ $50\% = -0,776x^2 + 16,91x + 5,6$ $0,5 = -0,776x^2 + 16,91x + 5,6$ $0 = x^2 + 22x - 7$ $0 = (x + 22,091)(x - 0,300)$ $x_1 = -22,091 \text{ mg/ml}$ $x_2 = 0,300 \text{ mg/ml}$ | $y = -0,776x^2 + 16,91x + 5,6$ $90\% = -0,776x^2 + 16,91x + 5,6$ $0,9 = -0,776x^2 + 16,91x + 5,6$ $0 = x^2 + 21,79x - 6,11$ $0 = (x + 0,277)(x - 22,068)$ $x_1 = -0,277 \text{ mg/ml}$ $x_2 = 22,068 \text{ mg/ml}$ |

3. *Streptococcus mutans* Air

| Data MIC <i>E. coli</i> dalam CFU/ml (10 ⁵) | | | | | | |
|---|---------------------------|-----------|-----------|----------|----------------|------------|
| Konsentrasi | Jumlah Koloni/100 μ l | | Rata-rata | SD | % penghambatan | Log Koloni |
| | U1 | U2 | | | | |
| 0,0 | 137000000 | 142000000 | 1,40E+08 | 3,54E+06 | 0 | 8,1 |
| 2,0 | 108000000 | 111000000 | 1,10E+08 | 2,12E+06 | 21,5 | 8,0 |
| 4,0 | 84000000 | 87000000 | 8,55E+07 | 2,12E+06 | 38,7 | 7,9 |
| 6,1 | 62000000 | 67000000 | 6,45E+07 | 3,54E+06 | 53,8 | 7,8 |
| 8,1 | 48000000 | 45000000 | 4,65E+07 | 2,12E+06 | 66,7 | 7,7 |
| 10,1 | 39000000 | 33000000 | 3,60E+07 | 4,24E+06 | 74,2 | 7,6 |

| Polifenol (mg/ml) | % Penghambatan |
|-------------------|----------------|
| 0,0 | 0 |
| 2 | 21,5 |
| 4,0 | 38,7 |
| 6,1 | 53,8 |
| 8,1 | 66,7 |
| 10,1 | 74,2 |



Perhitungan IC₅₀ *C.albicans* Pada Ekstrak etanol Polifenol Daun Tembakau

$$y = -0,381x^2 + 11,23x + 0,038$$

$$50\% = -0,381x^2 + 11,23x + 0,038$$

$$0,5 = -0,381x^2 + 11,23x + 0,038$$

$$0 = x^2 + 29x - 1,41$$

$$0 = (x + 29,52)(x - 0,048)$$

$$x_1 = -29,52 \text{ mg/ml}$$

$$x_2 = 0,048 \text{ mg/ml}$$

Perhitungan KHM *C.albicans* Pada Ekstrak etanol Polifenol Daun Tembakau

$$y = -0,381x^2 + 11,23x + 0,038$$

$$90\% = -0,381x^2 + 11,23x + 0,038$$

$$0,9 = -0,381x^2 + 11,23x + 0,038$$

$$0 = x^2 + 29x - 2,46$$

$$0 = (x + 0,83)(x - 29,56)$$

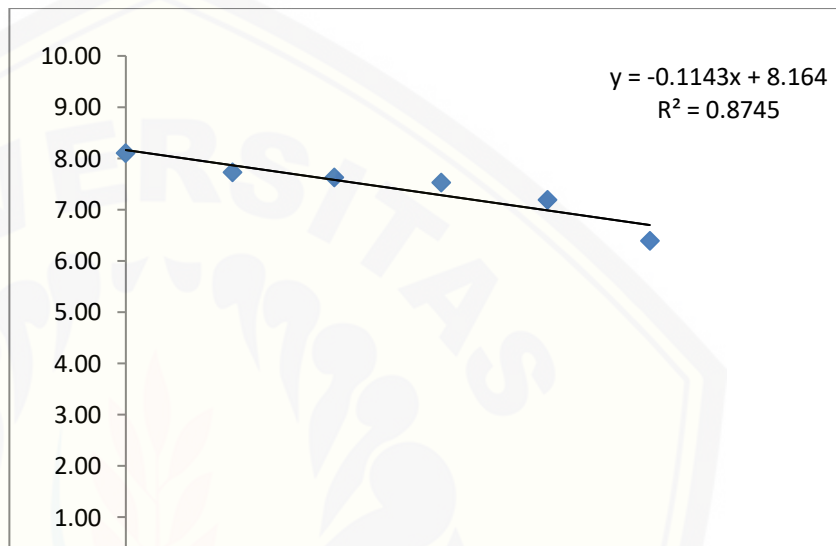
$$x_1 = -0,083 \text{ mg/ml}$$

$$x_2 = 29,56 \text{ mg/ml}$$

Lampiran F. Perhitungan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan IC₅₀ Metode Kurva Logaritmik

1. *Candida albicans* Etanol

| Polifenol (mg/ml) | % Penghambatan |
|-------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 2,6 | 58,20 |
| 5,1 | 66,41 |
| 7,7 | 73,83 |
| 10,3 | 87,89 |
| 12,8 | 98,20 |

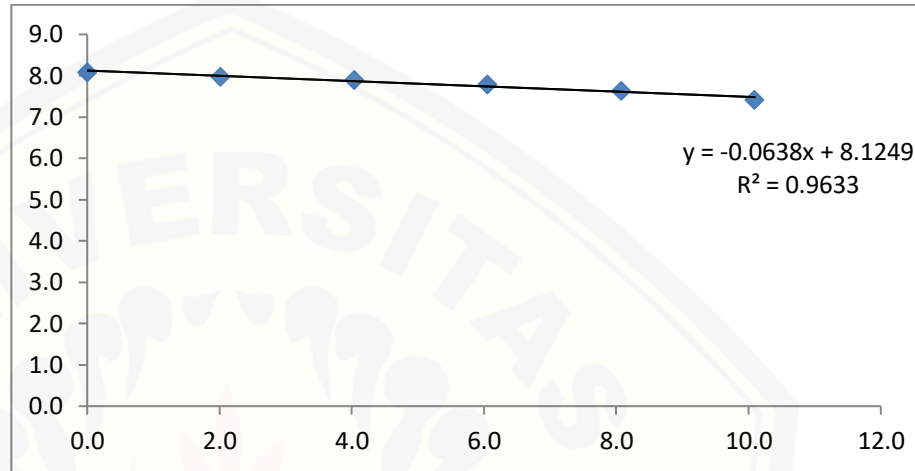


| | Kons. Polifenol (mg/ml) | | |
|-------|-------------------------|--------|--------|
| 1 log | 5 | 27,754 | 8,772 |
| | 4 | 36,526 | |
| 2 log | 5 | 27,754 | 17,544 |
| | 3 | 45,298 | |
| 3 log | 5 | 25,773 | 15,152 |
| | 3 | 40,924 | |

| IC ₅₀ | | Polifenol (mg/ml) | |
|-------------------------------------|----------------|-------------------|--------|
| Y1 = 1 x 10 ⁸ | Log Y1 = 8,000 | X1 = | 1,439 |
| Y2 = 50% (Y1) = 5 x 10 ⁷ | Log Y2 = 7,699 | X2 = | 4,079 |
| | | IC ₅₀ | 2,641 |
| IC ₉₀ | | Polifenol (mg/ml) | |
| Y1 = 1 x 10 ⁸ | Log Y1 = 8,000 | X1 = | 1,439 |
| Y2 = 90% (Y1) = 9 x 10 ⁷ | Log Y2 = 6,000 | X2 = | 18,982 |
| | | IC ₉₀ | 17,544 |

2. *Candida albicans* Air

| Polifenol (mg/ml) | Log Koloni |
|-------------------|------------|
| 0,0 | 8,1 |
| 2,0 | 8,0 |
| 4,0 | 7,9 |
| 6,1 | 7,8 |
| 8,1 | 7,6 |
| 10,1 | 7,4 |

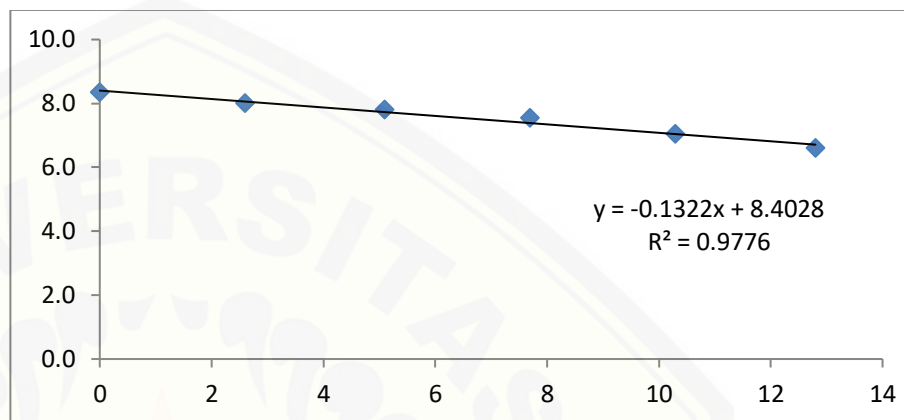


| | Kons. Polifenol (mg/ml) | | |
|-------|-------------------------|--------|--------|
| 1 log | 5 | 49,587 | 15,873 |
| | 4 | 65,460 | |
| 2 log | 5 | 49,587 | 31,746 |
| | 3 | 81,333 | |
| 3 log | 5 | 25,773 | 15,152 |
| | 3 | 40,924 | |

| IC ₅₀ | | | | Polifenol (mg/ml) | |
|-------------------------------------|----------|-------|------|-------------------|--------|
| Y1 = 1 x 10 ⁸ | Log Y1 = | 8,000 | X1 = | 1,968 | |
| Y2 = 50% (Y1) = 5 x 10 ⁷ | Log Y2 = | 7,699 | X2 = | 6,747 | |
| | | | | IC ₅₀ | 4,778 |
| IC ₉₀ | | | | Polifenol (mg/ml) | |
| Y1 = 1 x 10 ⁸ | Log Y1 = | 8,000 | X1 = | 1,968 | |
| Y2 = 90% (Y1) = 9 x 10 ⁷ | Log Y2 = | 6,000 | X2 = | 33,714 | |
| | | | | IC ₉₀ | 31,746 |

3. *Streptococcus mutans* Etanol

| Polifenol (mg/ml) | Log Koloni |
|-------------------|------------|
| 0 | 8,3 |
| 2,6 | 8,0 |
| 5,1 | 7,8 |
| 7,7 | 7,5 |
| 10,3 | 7,0 |
| 12,8 | 6,6 |

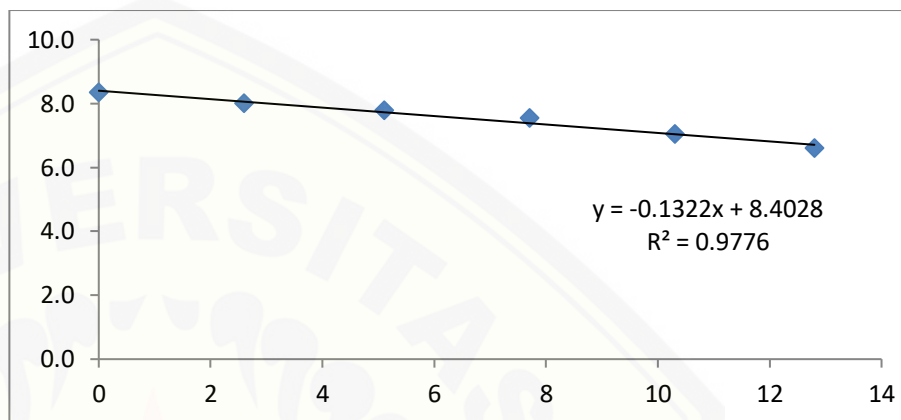


| | | Kons. Polifenol (mg/ml) | |
|-------|---|-------------------------|--------|
| 1 log | 5 | 25,773 | 7,576 |
| | 4 | 33,348 | |
| 2 log | 5 | 25,773 | 15,152 |
| | 3 | 40,924 | |
| 3 log | 5 | 25,773 | 15,152 |
| | 3 | 40,924 | |

| IC ₅₀ | | Polifenol (mg/ml) | |
|-------------------------------------|----------------|-------------------|--------|
| Y1 = 1 x 10 ⁸ | Log Y1 = 8,000 | X1 = | 3,045 |
| Y2 = 50% (Y1) = 5 x 10 ⁷ | Log Y2 = 7,699 | X2 = | 5,326 |
| | | IC ₅₀ | 2,281 |
| IC ₉₀ | | Polifenol (mg/ml) | |
| Y1 = 1 x 10 ⁸ | Log Y1 = 8,000 | X1 = | 3,045 |
| Y2 = 90% (Y1) = 9 x 10 ⁷ | Log Y2 = 6,000 | X2 = | 18,197 |
| | | IC ₉₀ | 15.152 |

4. *Streptococcus mutans* Air

| Polifenol (mg/ml) | Log Koloni |
|-------------------|------------|
| 0,0 | 8,1 |
| 2,0 | 8,0 |
| 4,0 | 7,9 |
| 6,1 | 7,8 |
| 8,1 | 7,7 |
| 10,1 | 7,6 |



| | Kons. Polifenol (mg/ml) | | |
|-------|-------------------------|--------|--------|
| 1 log | 5 | 53,492 | 16,949 |
| | 4 | 70,441 | |
| 2 log | 5 | 53,492 | 33,898 |
| | 3 | 87,390 | |
| 3 log | 5 | 25,773 | 15,152 |
| | 3 | 40,924 | |

| IC ₅₀ | | Polifenol (mg/ml) | |
|-------------------------------------|----------------|-------------------|--------|
| Y1 = 1 x 10 ⁸ | Log Y1 = 8,000 | X1 = | 2,644 |
| Y2 = 50% (Y1) = 5 x 10 ⁷ | Log Y2 = 7,699 | X2 = | 7,746 |
| | | IC ₅₀ | 5,102 |
| IC ₉₀ | | Polifenol (mg/ml) | |
| Y1 = 1 x 10 ⁸ | Log Y1 = 8,000 | X1 = | 2,644 |
| Y2 = 90% (Y1) = 9 x 10 ⁷ | Log Y2 = 6,000 | X2 = | 36,542 |
| | | IC ₉₀ | 33,898 |