

Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri Daun Tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*) Terhadap *Candida albicans*

Sony Suwasono*, Dwi Tari Wulandari, Giyarto

Universitas Jember; sony.ftp@unej.ac.id, dwitariwulandari@gmail.com, giyartocipto@yahoo.co.id

DOI: <https://doi.org/10.32528/nms.v1i2.79>

*Correspondensi : Sony Suwasono

Email: sony.ftp@unej.ac.id

Published: Maret, 2022



Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstrak: Daun tembakau sebagian besar digunakan sebagai bahan baku rokok saat ini oleh industri rokok, walaupun rokok dianggap kurang baik dari sisi kesehatan. Sementara daun tembakau jarang digunakan untuk bidang pangan dan kesehatan. Dalam penelitian ini, daun tembakau digunakan sebagai sumber minyak atsiri yang selanjutnya berfungsi sebagai senyawa antimikroba. Minyak atsiri didapatkan dengan cara destilasi uap daun tembakau kering, dan senyawa dalam minyak atsiri selanjutnya dideteksi dengan gas kromatografi mass spektra (GC-MS) sebelum diuji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Hasil uji menunjukkan kadar air daun tembakau sebesar $79,67 \pm 1,29\%$, sedangkan rendemen dan berat jenis minyak atsiri daun tembakau sebesar $0,026 \pm 0,004\%$ dan $0,934 \pm 0,169$ g/ml. Komponen kimia minyak atsiri daun tembakau terdiri dari 39 komponen dengan 16 senyawa komponen utama antara lain asam 7-Octadecanoic, methyl ester (CAS) dan neophytadiene. Aktivitas antimikroba minyak atsiri daun tembakau akan semakin tinggi dengan meningkatnya konsentrasi minyak atsiri, dengan zona hambat 7,222 mm pada konsentrasi 72% (v/v). Konsentrasi minyak atsiri daun tembakau yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* sebesar 3,67 mg/ml - 29,18 mg/ml.

Keywords: minyak atsiri; daun tembakau; antimikroba; *Candida albicans*

PENDAHULUAN

Potensi daun tembakau di Indonesia memiliki nilai yang tinggi dalam hal perdagangan ekspor ke berbagai negara di dunia seperti Amerika Serikat, Senegal, Jepang dan Ukraina (Paramartha dan Lazuardi, 2013). Badan Pusat Statistik menjelaskan bahwa pada tahun 2016 produksi tembakau pada perkebunan besar sebesar 0,6 ribu ton sedangkan pada perkebunan rakyat sebesar 195,6 ribu ton (Badan Pusat Statistik, 2017). Selain itu, volume dan nilai ekspor komoditi tembakau di Jawa Timur pada tahun 2015 dan 2016 sebesar 42.095.695 dan 40.991.842 ton (BPS Jawa Timur, 2017).

Dari jumlah daun tembakau yang melimpah, sebagian daun tembakau yang tidak lolos seleksi dan sortasi menjadi rokok akan dibuang sebagai daun tembakau afkir. Daun tembakau afkir yang dibuang masih mengandung komponen kimia yang dapat dimanfaatkan menjadi produk selain rokok seperti pestisida, bahan campuran pembuatan parfum badan dan bio-oil (Nurnasari dan Subiyakto, 2011). Salah satu jenis daun tembakau afkir yang akan digunakan pada penelitian ini adalah daun tembakau Kasturi, yang merupakan salah satu jenis dari tembakau *Nicotiana tabaccum*. Pemilihan daun tembakau jenis Kasturi didasarkan pada tingkat produksinya yang melimpah, dimana produksi di Jember pada tahun 2016 sebesar 35.985.65 kw/ha (Badan Pusat Statistik Jember, 2017). Daun tembakau ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk lain yang lebih bermanfaat, yaitu minyak atsiri. Salah satu penelitian menyebutkan bahwa pemanfaatan minyak atsiri dari daun tembakau Bondowoso jenis Virginia didasarkan dari komponen kimia daun tembakau yang terdiri dari 39,89% neofitadiena, 4,88% solanone, dan 1,15% eugenol (Nurnasari dan Subiyakto, 2011). Senyawa neofitadiena memiliki aktivitas farmakologi seperti antipiretik, analgesik,

anti-inflamasi, antimikroba dan antioksidan (Dinas Komunikasi dan Informatika Provinsi Jawa Timur, 2017).

Sifat antimikroba minyak atsiri daun tembakau akan dikembangkan sebagai antijamur terhadap *Candida albicans*. Fungi *C. albicans* bersifat patogen dan banyak ditemui di bagian tubuh manusia khususnya bagian oral dan mukosa genital. Mikroba jenis ini dapat menyebabkan suatu penyakit infeksi jamur atau biasa disebut kandidiasis (Zorlc *et al.*, 2016), dan merugikan manusia jika tidak dilakukan pencegahan dengan cara mengurangi jumlah populasinya pada diri manusia. Minyak atsiri daun tembakau diharapkan dapat digunakan sebagai senyawa antijamur terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Oleh karena itu perlu dilakukan pengambilan minyak atsiri melalui destilasi uap daun tembakau, menganalisa senyawa aktif dalam minyak atsiri daun tembakau dan mengetahui efektifitas minyak atsiri daun tembakau sebagai antimikroba melalui pengujian penghambatan terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah destilator untuk proses pembuatan minyak atsiri daun tembakau, inkubator (Haraeus Inst B6200, Jerman), *Laminar air flow* (Crumair,), dan *Colony counter* (Stuart Scientific). Spektrofotometer UV-Vis ($\lambda = 530$ nm) sebagai alat untuk menghitung tingkat kekeruhan larutan Mc Farland. GC-MS untuk mengetahui komponen kimia yang ada pada minyak atsiri daun tembakau. Bahan yang digunakan adalah daun tembakau jenis Kasturi yang didapatkan dari perkebunan rakyat daerah Kalisat, Jember Jawa Timur, *Sabouround's Dextrose Agar* (SDA Merck), larutan NaCl 0,9%, ketokonazol 1 mg/ml sebagai kontrol positif, BaCl₂ dan H₂SO₄ untuk pembuatan larutan Mc Farland 0,5. Kultur *Candida albicans* ATCC-10231 berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pembuatan Minyak Atsiri Daun Tembakau

Daun tembakau afkir kering sebanyak ± 4 kg, yang telah dipotong kecil, dimasukkan ke dalam tanki destilasi yang sebelumnya di bagian bawah rak telah ditambahkan aquades 4 Liter. Selanjutnya, pemanasan dilakukan selama 5 – 6 jam untuk mendapatkan minyak atsiri daun tembakau. Minyak atsiri hasil dari proses destilasi daun tembakau diukur volumenya dan ditimbang beratnya. Minyak atsiri disimpan dalam botol tertutup rapat di dalam lemari pendingin agar tidak terjadi kerusakan.

Analisa Rendemen Minyak Atsiri Daun Tembakau (Widiyanto dan Mohamad, 2013)

Rendemen minyak atsiri menunjukkan banyaknya jumlah minyak yang dihasilkan dari penyulingan daun tembakau selama 4 – 6 jam dan dinyatakan dalam persentase (%). Perhitungan rendemen minyak atsiri dapat dihitung melalui rumus.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat minyak atsiri daun tembakau (output)}}{\text{berat daun tembakau segar (input)}} \times 100\%$$

Analisa Berat Jenis Minyak Atsiri Daun Tembakau (SNI 06-2387-2006)

Berat jenis merupakan perbandingan antara berat minyak dengan berat air pada volume dan suhu yang sama. Bobot jenis dihitung sebagai perbandingan antara berat tabung berisi minyak (m₂) dan tabung

kosong (m) dengan berat tabung berisi air (m1) dan tabung kosong (m). Penghitungan berat jenis dapat diketahui melalui rumus.

$$\text{Bobot jenis} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

Pengujian Komponen Minyak Atsiri (Nurhaen *et al.*, 2016)

Pengamatan komponen minyak atsiri daun tembakau dilakukan dengan menggunakan analisa gas kromatografi mass spektrofotometer (GC-MS) yang dioperasikan pada suhu sebesar 60°C selama 4 menit dan dilakukan kenaikan suhu menjadi 120°C dan terjadi kenaikan suhu 2°C setiap menitnya, dengan laju aliran gas total 50 ml/menit dengan *split ratio* 1 : 30 dan suhu injektor 300°C dengan jumlah sampel yang di ambil dengan cara penyuntikkan ke injektor sebesar 0,1 µl. *Mass range* yang dideteksi pada analisis GC – MS berada pada nilai 40 – 400 µg/mol dengan *interval scanning* sebesar 1 detik.

Pembuatan Suspensi *C. albicans* (WHO, 2009)

Sebanyak 1 ose kultur *C. albicans* hasil pembiakan selama 24 jam diambil dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% dengan volume 10 mL. Inokulum *C. albicans* diencerkan dalam larutan fisiologis hingga tingkat kekeruhan sesuai larutan standar McFarland 0,5 atau setara 10⁸CFU/ml dengan nilai absorbansi sebesar 0,05.

Pengujian Antimikroba Minyak Atsiri Daun Tembakau Metode Difusi Padat (Cakram Disk) Yang Telah Dimodifikasi (Rahayu dan Tuti, 2009)

Pengujian aktivitas antifungi minyak atsiri daun tembakau terhadap *C. albicans* dilakukan dengan cara pemberian minyak atsiri daun tembakau dengan konsentrasi 0 - 72% pada kertas cakram berdiameter 6 mm dan diletakkan pada permukaan media SDA yang telah diberi sebaran suspensi *C. albicans*. Selanjutnya media diinkubasi selama 24 jam untuk mengetahui adanya zona bening sebagai petunjuk adanya potensi antifungi pada minyak atsiri daun tembakau. Daya hambat pertumbuhan *C. albicans* dapat diketahui dengan cara mengukur zona hambat yang berada disekitar kertas cakram.

Pengujian Antimikroba Minyak Atsiri Daun Tembakau Metode Dilusi Padat Yang Telah Dimodifikasi (Desmara *et al.*, 2017)

Minyak atsiri daun tembakau sebagai bahan uji dimasukkan ke dalam 4 ml media SDA steril yang masih dalam keadaan cair dengan variasi konsentrasi 0 – 50 mg/ml dan dilakukan homogenisasi dengan menggunakan *vortex* untuk melarutkan bahan uji di dalam media SDA. Media SDA yang telah homogen dengan bahan uji dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi 100 µl suspensi mikroba dengan tingkat pengenceran sebesar 10⁻³. Media dan bahan uji yang telah dituangkan ke dalam cawan petri selanjutnya didiamkan untuk memadatkan media yang berada pada cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 dan 48 jam. Total mikroba yang tumbuh dihitung dan diolah dengan menggunakan grafik persentase penghambatan dan jumlah log koloni untuk menentukan nilai konsentrasi hambatan pada *C. albicans*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air Daun Tembakau

Penghilangan kadar air daun tembakau dalam proses pengolahan daun tembakau dapat dilakukan dengan cara pengeringan oleh sinar matahari secara langsung selama 6 – 7 hari. Pengeringan ini juga dilakukan untuk mendapatkan minyak atsiri daun tembakau. Semakin lama waktu yang dilakukan untuk melakukan pengeringan maka kadar air yang terkandung di dalam bahan semakin sedikit (Wardana, 2016). Selain itu menurut Tanjung (2007) pengaruh penurunan kadar air memiliki keterkaitan dengan penurunan massa bahan karena air yang menguap dari bahan yang dikeringkan dapat dilihat dari turunnya massa bahan. Berdasarkan penelitian, kadar air daun tembakau segar hasil pengeringan dengan menggunakan sinar matahari adalah sebesar $79,67 \pm 1,29\%$. Kadar air daun tembakau jenis Kasturi ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Wardana (2016) dimana kadar air daun tembakau hasil pengeringan panas matahari memiliki nilai yang berkisar antara 80 – 90%. Selisih perbedaan yang hanya sebesar 0,33% dapat disebabkan adanya lama waktu pengeringan dan kestabilan suhu selama proses pengeringan dengan metode *sun drying*.

Rendemen Minyak Atsiri Daun Tembakau

Daun tembakau merupakan salah satu tanaman yang memiliki aroma sehingga aroma yang dihasilkan pada umumnya akan menghasilkan minyak atsiri (Nurnasari dan Subiyakto, 2011). Jumlah minyak atsiri yang dihasilkan pada berbagai jenis daun tembakau memiliki tingkat rendemen minyak atsiri yang berbeda. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya perbedaan jenis tanaman tembakau, iklim, cuaca, jenis tanah, waktu penanaman dan tingkat kematangan daun tembakau ketika dipanen. Beberapa jenis daun tembakau yang telah diketahui tingkat rendemen minyak atsirinya adalah jenis Madura sebesar 0,0267%, jenis Temanggung sebesar 0,0693%, jenis Bondowoso 0,8428% dan jenis Blitar 0,0632% (Nurnasari dan Subiyakto, 2011). Perbedaan hasil rendemen minyak atsiri juga berbeda pada jenis daun tembakau Kasturi yaitu sebesar $0,026 \pm 0,004\%$. Rendemen minyak atsiri tersebut di destilasi dengan metode destilasi uap – air selama 5 – 6 jam dan berwarna coklat tua. Perbedaan hasil rendemen minyak atsiri yang didapatkan dari penelitian ini disebabkan oleh perbedaan jenis daun tembakau, lama pengeringan daun tembakau dan kadar air yang terdapat pada daun tembakau yang telah kering serta jenis destilasi yang digunakan. Selain itu perbedaan waktu destilasi dan masih terdapat kandungan air yang lebih banyak di bagian tulang daun menyebabkan jumlah minyak atsiri yang terekstrak lebih sedikit dari minyak atsiri daun tembakau Bondowoso.

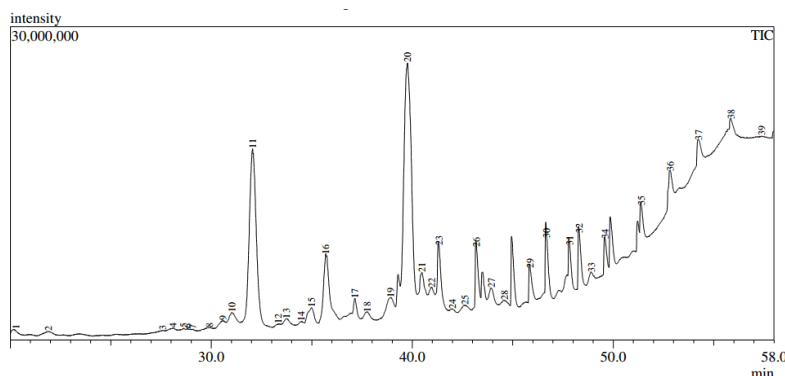
Berat Jenis Minyak Atsiri Daun Tembakau

Berat jenis merupakan perbandingan antara berat minyak dengan berat air pada volume dan suhu yang sama (Badan Standarisasi Nasional, 2006). Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dari penimbangan minyak atsiri daun tembakau didapatkan berat jenis minyak atsiri sebesar $0,934 \pm 0,169$ g/ml. Jika dibandingkan dengan minyak atsiri lainnya yang memiliki karakteristik fisik dan kimia yang hampir sama, minyak atsiri daun tembakau memiliki berat jenis yang hampir sama dengan minyak atsiri lainnya. Berat jenis minyak atsiri lain berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) yaitu minyak atsiri cengkik dengan berat jenis sebesar 0,880 – 0,922 gr/ml (SNI 06-3953-195) dan berat jenis minyak atsiri nilam sebesar 0,950 – 0,975 gr/ml (SNI 06-2385-2006). Perbandingan nilai berat jenis dari kedua jenis minyak atsiri tersebut digunakan sebagai pembanding dari berat jenis minyak atsiri daun tembakau karena belum adanya SNI yang menyatakan berat jenis minyak atsiri daun tembakau. Perbedaan nilai berat jenis ketiga minyak atsiri tersebut

disebabkan oleh adanya perbedaan jenis daun atau tanaman, kondisi tempat tumbuh dan metode penyulingan yang digunakan serta fraksi berat yang larut dalam air (Yulianto *et al.*, 2012). Salah satu komponen yang larut dalam air merupakan komponen yang terdiri dari senyawa teroksigenasi dan mempunyai bobot jenis lebih besar jika dibandingkan senyawa – senyawa lain yang tidak teroksigenasi (terpen, sesquiterpen dan senyawa lain) (Yulianto *et al.*, 2012).

Kandungan Kimia Minyak Atsiri Daun Tembakau

Daun tembakau memiliki kandungan minyak atsiri sebesar 7 – 12% yang bercampur dengan senyawa aktif tembakau yang lain seperti pektinat, polifenol, flavon, karotenoid, parafin, sterin dan senyawa lainnya (Nurnasari dan Subiyakto, 2011). Komponen senyawa kimia yang terdapat dalam minyak atsiri daun tembakau dapat diketahui melalui metode kromatografi gas dan identifikasi spektrometri massa (*Gas Chromatography-Mass Spectra*). Berdasarkan metode GC – MS yang telah dilakukan pada minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi dapat dilihat beberapa komponen kimia yang terdapat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Kromatogram kromatografi gas minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi

Berdasarkan grafik kromatogram GC minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi diperoleh 39 jenis komponen minyak atsiri daun tembakau. Komponen kimia utama yang terdapat pada minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi dengan syarat > 2% (Nurnasari dan Subiyakto, 2011) terdiri dari 16 senyawa yaitu neofitadiena (13,19%), hexadecanoic acid,methyl ester (CAS) (5,11), 17-Octadecenoic acid,methyl ester (CAS) (18,67%), Eicosamethylcyclo decasiloxan (3,15%), Dibenzo[A,H] cyclotetradecene,2 (2,02%), Cyclonona siloxane, octadecamp (5,26%), 1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl)methyl] (4,90%), Tetracosamethylcyclo do decasiloxane (2,72%), Tetracosamethyl cyclododecasiloxane (5,27%), Tetracosamethylcyclododecasiloxane (3,71%), Tetracosamethyl cyclododecasiloxane (4,07%), Tetracosamethyl -cyclodo decasiloxane (2,60%), Tetracosamethyl cyclododecasiloxane (3,25%), Tetra cosa -methylcyclododecasiloxane (3,81%), Tetracosamethylcyclo do decasiloxane (4,30%), dan Iron, mono -carbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarb (3,79%).

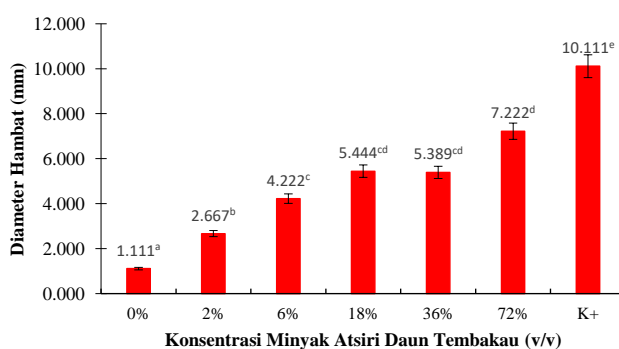
Secara umum, minyak atsiri tersusun atas beberapa komponen yaitu terdiri dari senyawa monoterpena (C_{10}), seskiterpena (C_{15}), turunan benzene (C_{11}), asam organik, ester alifatik, ester aromatik dan hidrokarbon alifatik (Nurnasari dan Subiyakto, 2011). Berdasarkan pengelompokan senyawa – senyawa penyusun minyak atsiri dapat digolongkan senyawa minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi yang terdapat pada **Tabel 1**. Hasil yang didapatkan menyatakan bahwa penyusun utama minyak atsiri daun tembakau yang paling banyak terdapat pada golongan senyawa terpenoid.

Tabel 1. Penggolongan senyawa minyak atsiri daun tembakau Kasturi

Puncak	Rumus Molekul	Jumlah senyawa (%)	Berat Molekul	Nama Senyawa	Golongan
11	C ₂₀ H ₃₈	13,19	277	Neophytadiene	Diterpen
16	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	5,11	270	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)	Asam lemak organik
19	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1,56	256	Hexadecanoic acid (CAS)	Asam lemak organik
20	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	18,67	296	17-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS)	Ester (Asam lemak organik)
21	C ₂₀ H ₆₀ O ₁₀ S ₁₁₀	3,15	740	Eicosamethylcyclododeasiloxan	Diterpenoid
22	C ₃₀ H ₄₄	2,02	404	Dibenzo[A,H]cyclotetradecene, 2	Triterpenoid
23	C ₁₈ H ₅₄ O ₉ S ₁₉	5,26	666	Cyclononasiloxane, octadecam	Aromatik
26	C ₁₂ H ₁₀ FN ₅	4,90	243	1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl)methyl]-	Alkaloid
29	C ₂₄ H ₇₂ O ₁₂ S ₁₁₂	2,72	888	Tetracosamethylcyclododecasi	Aromatik
30	C ₂₄ H ₇₂ O ₁₂ Si ₁₂	5,27	888	Tetracosamethyl-cyclododecasi oxane	Aromatik
31	C ₂₄ H ₇₂ O ₁₂ Si ₁₂	3,71	888	Tetracosamethyl-cyclododecasi oxane	Aromatik
32	C ₂₄ H ₇₂ O ₁₂ Si ₁₂	4,07	888	Tetracosamethyl-cyclododecasi oxane	Aromatik
34	C ₂₄ H ₇₂ O ₁₂ Si ₁₂	2,60	888	Tetracosamethyl-cyclododecasi oxane	Aromatik
35	C ₂₄ H ₇₂ O ₁₂ Si ₁₂	3,25	888	Tetracosamethyl-cyclododecasi oxane	Aromatik
36	C ₂₄ H ₇₂ O ₁₂ Si ₁₂	3,81	888	Tetracosamethyl-cyclododecasi oxane	Aromatik
37	C ₂₄ H ₇₂ O ₁₂ Si ₁₂	4,30	888	Tetracosamethyl-cyclododecasi oxane	Aromatik
38	C ₂₁ H ₂₂ FEN ₂ O ₅	3,79	438	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1, 4-dicar	

Zona Hambat *Candida albicans*

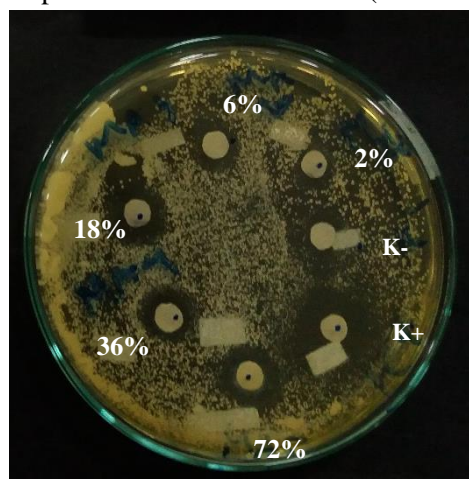
Minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi memiliki 6 tingkat konsentrasi yang berbeda dalam hal penghambatan pertumbuhan *C. albicans*. Berdasarkan nilai diameter zona hambat yang dihasilkan dari 6 tingkat konsentrasi, pertumbuhan *C. albicans* mengalami peningkatan diameter penghambatan pada setiap cakram yang ditanam dipermukaan media (**Gambar 2**). Hasil penelitian dengan metode cakram menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri maka zona hambat pertumbuhan *C. albicans* pada setiap semakin besar.



Gambar 2. Zona hambat minyak atsiri daun tembakau terhadap *C. albicans*

Hasil zona hambat menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi minyak atsiri daun tembakau memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter zona hambat pertumbuhan *C. albicans* ($p < 0,05$) (Gambar 2). Berdasarkan uji Duncan pada taraf tingkat kepercayaan 95%, terdapat konsentrasi yang berbeda nyata antara kontrol negatif (0%) dengan konsentrasi 2%. Pada konsentrasi 6 sampai 18% tampak adanya kenaikan yang tidak tinggi. Konsentrasi yang menunjukkan beda nyata yang lain adalah pada konsentrasi 36% dengan 72%. Adanya perlakuan yang berbeda nyata antara kontrol negatif dengan konsentrasi 2% dikarenakan adanya minyak atsiri daun tembakau yang ditambahkan pada konsentrasi 2%. Perbedaan yang nyata juga terjadi pada perlakuan konsentrasi 72% dengan kontrol positif (K+) yang disebabkan oleh adanya zat antibiotik yaitu ketokonazol pada K+ yang memiliki sifat antimikroba terhadap *C. albicans*.

Perbedaan antar perlakuan juga dapat dilihat pada Gambar 4.2 yang menyatakan bahwa nilai zona hambat yang tertinggi terdapat pada konsentrasi 72% dengan diameter zona hambat sebesar 7,222 mm, dimana nilai ini mendekati diameter zona hambat kontrol positif yaitu sebesar 10,111 mm. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Andayani *et al* (2014), kriteria diameter zona hambat yang terbentuk pada >10 mm dikategorikan hambatan kuat. Dalam hal ini konsentrasi 72% minyak atsiri daun tembakau memiliki kekuatan daya hambat yang tergolong sedang-agak kuat dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Kekuatan konsentrasi minyak atsiri daun tembakau lainnya (0 – 36%) termasuk kategori hambatan yang lemah terhadap *C. albicans*. Perbedaan diameter zona hambat antara lemah, sedang, agak kuat dan kuat dipengaruhi oleh adanya jumlah minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi yang terdapat pada masing – masing konsentrasi yang ditambahkan pada cakram (Gambar 3). Semakin besar jumlah minyak atsiri daun tembakau yang ditambahkan menyebabkan semakin besar jumlah zat aktif yang terkandung dalam bahan, sehingga daya penghambatan terhadap *C. albicans* semakin kuat (Bobbarala, 2012).



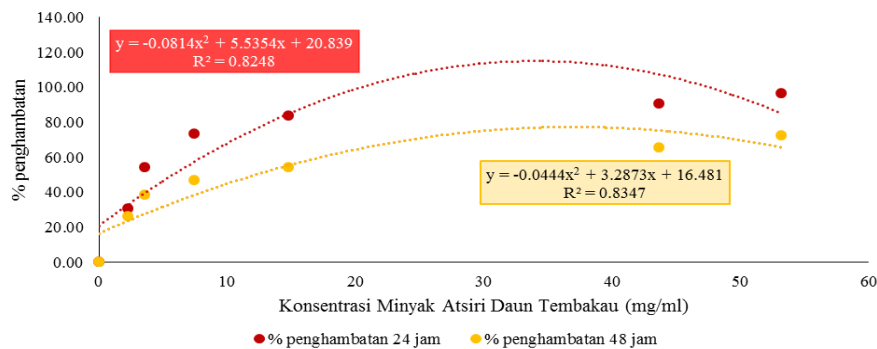
Gambar 3. Zona hambat pertumbuhan *Candida albicans*

Zat aktif yang berperan dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada minyak atsiri daun tembakau adalah solanon dan neofitadiena. Solanon merupakan salah satu golongan senyawa alkaloid. Adanya senyawa alkaloid dalam minyak atsiri daun tembakau memiliki peranan dalam hal melubangi membran sel jamur yang menyebabkan sel menjadi lemah (Arif *et al.*, 2009). Rusaknya membran sel *C. albicans* akan mengakibatkan permeabilitas membran dan kestabilan sel menjadi terganggu. Sedangkan neofitadiena merupakan senyawa isoprenoid polyene (C_{20}) dan termasuk senyawa golongan diterpen (Nurnasari dan Subiyakto, 2011). Adanya senyawa diterpen yang termasuk dalam golongan senyawa terpenoid diketahui mampu menghambat sintesa ergosterol pada membran sel yang merupakan komponen

sterol yang penting dalam menyusun membran sel *C. albicans* (Andayani *et al.*, 2014). Oleh karena itu, adanya peningkatan senyawa aktif yang terdapat pada minyak atsiri daun tembakau seiring dengan peningkatan konsentrasi minyak atsiri maka akan semakin besar efek yang ditimbulkan seperti bertambahnya diameter zona hambat yang terbentuk.

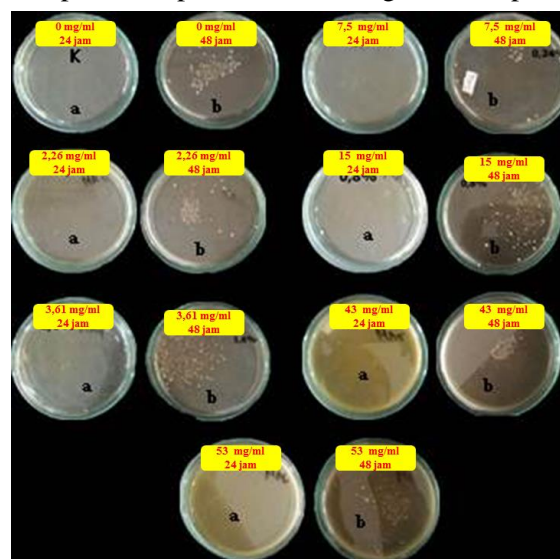
Respon Penghambatan Pertumbuhan *Candida albicans*

Berdasarkan Gambar 4, penghambatan minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi terhadap pertumbuhan koloni *C. albicans* akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi minyak atsiri. Perbedaan konsentrasi minyak atsiri daun tembakau dan waktu pertumbuhan terhadap pertumbuhan *C. albicans* dilakukan analisa uji ANOVA untuk mengetahui nyata atau tidaknya pengaruh konsentrasi dan waktu pertumbuhan tersebut. Hasil uji menunjukkan adanya pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) dari perbedaan konsentrasi dan waktu pertumbuhan terhadap pertumbuhan *C. albicans*.



Gambar 4. Persentase penghambatan minyak atsiri daun tembakau terhadap pertumbuhan *C. albicans*

Perbedaan dari masing – masing perlakuan dapat terjadi karena adanya penambahan minyak atsiri daun tembakau yang diuji dan ditunjukkan melalui penurunan pertumbuhan *Candida albicans* pada setiap penambahan konsentrasi. Penurunan pertumbuhan *Candida albicans* juga dapat dilihat dari gambar 4.5 yang menunjukkan pertumbuhan koloni pada setiap konsentrasi dengan waktu pertumbuhan 24 jam dan 48 jam.



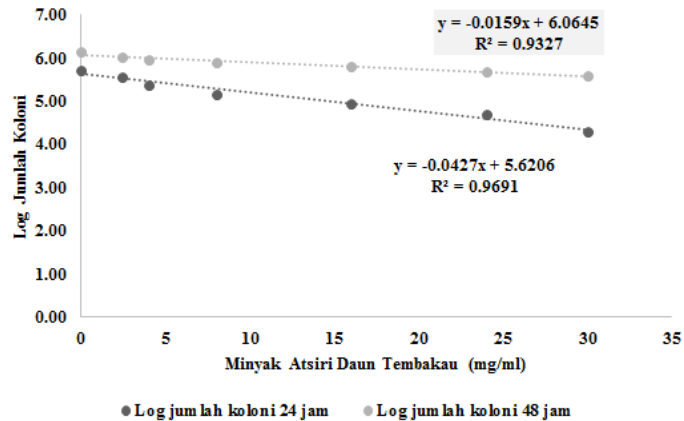
Gambar 5. Pertumbuhan *C. albicans* dengan variasi konsentrasi minyak atsiri tembakau selama 24 jam dan 48 jam

Peningkatan persentase penghambatan pertumbuhan *C. albicans* menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan *C. albicans* yang disebabkan adanya senyawa aktif pada minyak atsiri daun tembakau jenis Kasturi. Hal ini dapat dilihat dari salah satu pertumbuhan mikroba pada konsentrasi 3,61 mg/ml memiliki persentase penghambatan sebesar 54,29% pada waktu pertumbuhan 24 jam sedangkan pada waktu pertumbuhan 48 jam persentase penghambatan yang mulai menunjukkan 54,04% berada pada konsentrasi 15 mg/ml (Gambar 5). Adanya penghambatan tersebut adalah akibat peningkatan konsentrasi minyak atsiri yang mengakibatkan bertambahnya jumlah senyawa aktif yang terdapat pada minyak atsiri daun tembakau. Senyawa aktif yang terdapat pada minyak atsiri daun tembakau dan berpengaruh dalam penghambatan pertumbuhan total mikroba meliputi golongan senyawa alkaloid, terpenoid, dan asam lemak organik.

Salah satu komponen minyak atsiri daun tembakau yang termasuk golongan senyawa alkaloid adalah solanon dengan jumlah sebesar 0,45% dan 0,27%. Adanya alkaloid berupa solanon yang menjadi penyusun utama dalam minyak atsiri daun tembakau memberikan peran mencegah terjadinya replikasi DNA sel fungi dengan cara senyawa tersebut menyisip di antara dinding sel dan atau DNA sel fungi sehingga menyebabkan pertumbuhan mikroba terganggu (Lestari, 2013). Senyawa lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans* adalah golongan senyawa terpenoid. Senyawa terpenoid merupakan golongan yang diketahui sebagai penyusun minyak atsiri yang utama pada tanaman (Andayani *et al*, 2014). Salah satu senyawa minyak atsiri daun tembakau yang termasuk dalam golongan terpenoid adalah neofitadiena dengan jumlah senyawa sebesar 13,19% dalam minyak atsiri daun tembakau Kasturi. Adanya senyawa neofitadiena yang cukup besar jumlahnya sebagai golongan senyawa terpenoid dapat menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sel *C. albicans* (Lestari, 2013). Hal ini terjadi karena terpenoid mampu menghambat sintesa ergosterol pada membran sel yang merupakan komponen sterol penting pada membran sel *C. albicans* (Choi, 2008; Daisy *et al*, 2008 dalam Andayani *at al*, 2014). Mekanisme terpenoid dalam menghambat biosintesis ergosterol dalam sel fungi dapat dilakukan dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa – senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolic sehingga menghambat pertumbuhan sel fungi dan bisa mencapai kematian sel fungi. Selain itu, bagian lipofilik terpenoid ikut berpartisipasi ke dalam struktur dan fungsi membran sehingga menyebabkan perubahan fluiditas membran, mengubah lingkungan lipid protein membran, melisiskan membran sel dan mengganggu aktivitas enzimatik membran yang dapat merusak pembentukan dinding sel. Akibat dari penurunan ergosterol yang terdapat pada sel *Candida albicans* dapat menyebabkan ketidakstabilan membran sehingga mampu menurunkan aktivitas enzim yang berkaitan dengan membran dan mengakibatkan peningkatan permeabilitas serta hambatan pertumbuhan atau perbanyakan sel *C. albican* (Andayani *et al*, 2014).

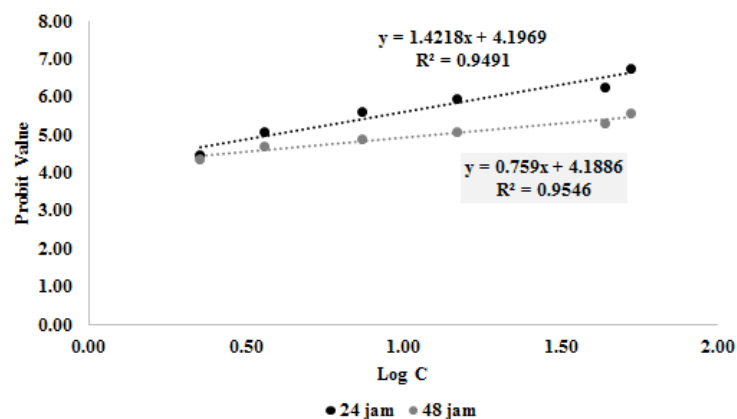
Golongan senyawa lain yang terdapat pada minyak atsiri daun tembakau dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba khususnya *C. albicans* adalah asam lemak organik. Asam lemak organik dapat menghambat pertumbuhan sel *C. albicans* dengan cara menyisip di antara membran sel fungi, meningkatkan permeabilitas membran, dapat merusak integritas sitoplasma dan dapat menghambat morfogenesis jamur serta mencegah pembentukan hifa (Lestari, 2013). Senyawa aktif yang termasuk dalam golongan asam lemak organik pada minyak atsiri daun tembakau Kasturi adalah *hexadecanoic acid* (5,11% dan 1,56%) dan *17-octadecanoic acid, methyl ester* (CAS). Selain itu, senyawa *hexadecanoic acid* dapat memberikan efek

terhadap adanya partisi ion pada lapisan membran sel dari mikroorganisme seperti *Candida albicans* (Maligan *et al.*, 2016).



Gambar 6. Kurva logaritmik hubungan penghambatan minyak atsiri daun tembakau terhadap *C. albicans*

Berdasarkan beberapa senyawa aktif yang berperan dalam menghambat pertumbuhan koloni *C. albicans* juga ditunjukkan dari log jumlah koloni *C. albicans* dengan kurva grafik linier pada **Gambar 6**. Jika dilihat dari kurva grafik log jumlah koloni, pertumbuhan koloni *C. albicans* mengalami penurunan yang cukup signifikan. Hal ini dapat dilihat dari nilai R^2 sebesar 0,9327 (24 jam) dan 0,9691 (48 jam) yang memiliki hubungan korelasi yang positif terhadap penurunan log jumlah koloni *C. albicans*. Penurunan jumlah koloni menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi minyak atsiri membuktikan bahwa senyawa aktif minyak atsiri daun tembakau dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*.



Gambar 7. Kurva probit hubungan penghambatan minyak atsiri daun tembakau terhadap *C. albicans*

Respon penghambatan pertumbuhan *C. albicans* dapat dilihat melalui kurva polinomial (**Gambar 4**), kurva logaritmik (**Gambar 6**) dan kurva probit (**Gambar 7**). Berdasarkan kurva logaritmik dengan pertumbuhan selama 24 jam, nilai konsentrasi minyak atsiri terhadap penghambatan pertumbuhan *C. albicans* sebesar 50% adalah 7,05 mg/ml dan penghambatan sebesar 90% atau lebih adalah 23,42 mg/ml. Sementara itu berdasarkan kurva probit dengan pertumbuhan selama 24 jam, nilai konsentrasi minyak atsiri

untuk penghambatan pertumbuhan *C. albicans* sebesar 5% adalah 3,67 mg/ml dan penghambatan pertumbuhan 90% atau lebih adalah 29,18 mg/ml.

Berdasarkan kurva probit, pada konsentrasi minyak atsiri daun tembakau 3,67 mg/ml sebagai nilai konsentrasi hambatan 50% pada waktu pertumbuhan 24 jam dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* sebesar 50%. Hal ini sesuai dengan persentase penghambatan pada pengujian yaitu pada konsentrasi minyak atsiri daun tembakau 3,61 mg/ml memiliki kemampuan menghambat sebesar 54,29%. Hal ini berbeda dengan waktu pertumbuhan 48 jam, dimana respon penghambatan pada nilai konsentrasi hambatan 50% terjadi pada konsentrasi minyak atsiri sebesar 11,79 mg/ml, sementara pada pengujian ditemukan konsentrasi minyak atsiri daun tembakau sebesar 14,83 mg/ml dengan penghambatan sebesar 54,04%. Adanya perbedaan waktu pertumbuhan dapat mempengaruhi jumlah koloni *C. albicans* yang diamati dan terjadi peningkatan pertumbuhan. Selain itu, peningkatan pertumbuhan koloni *C. albicans* pada waktu 48 jam juga dapat disebabkan dengan karakteristik dinding sel *tersebut* yang lebih kuat dengan adanya manan (15,2%) dan glukukan (47%) yang menyusun dinding sel *C. albicans* (Maligan *et al*, 2016).

SIMPULAN

Minyak atsiri daun tembakau Kasturi memiliki berat jenis sebesar $0,934 \pm 0,169$ g/ml dengan rendemen sebesar $0,026 \pm 0,004\%$. Minyak atsiri daun tembakau Kasturi memiliki 39 jenis komponen kimia dengan 16 senyawa komponen utama seperti neofitafiena sebesar 13,19% dan 17-*Octadecanoic acid*, methyl ester (CAS) sebesar 18,67%. Kedua senyawa tersebut merupakan salah satu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* selama 24 jam, dimana konsentrasi hambatan 50% sebesar 3,67-7,05 mg/ml dan konsentrasi hambatan 90% sebesar 23,42 - 29,18 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, A., Ari Susilowati dan Artini Pangastuti. (2014). Anti *Candida* Minyak Atsiri Lengkuas Putih (*Alpinia galangal*) terhadap *Candida albicans* Penyebab Candidiasis secara In Vitro. ISSN : 2339 – 1901. Vol. 2 (2) : 1 – 9.
- AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis*. Washington : Association of Official Analytical Chemists.
- Badan Pusat Statistik. (2017). *Statistik Indonesia 2017*. Jakarta : CV Dharmaputra.
- Badan Pusat Statistik Jawa Timur (2017). *Provinsi Jawa Timur dalam Angka 2017*. Surabaya : CV Bima Media Mandiri.
- Badan Pusat Statistik Jember. (2017). *Kabupaten Jember dalam Angka 2017*. Jember : BPS Kabupaten Jember.
- Badan Standarisasi Nasional. (2006). *SNI 06-2385-3006 : Minyak Nilam*. Jakarta : BSN.
- Badan Standarisasi Nasional. (2006). *SNI 06-2387-2006 : Minyak Daun Cengkih*. Jakarta : BSN.
- Bobbarala, V. (2012). *Antimicrobial Agents*. Croatia : Intech.

-
- Desmara, S., Sri Rezeki., Sunnati. (2017). Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Journal Consinus Dentistry*. Vol 2 (1) : 31 – 39.
- Dinas Komunikasi dan Informatika Provinsi Jawa Timur, (2017). Litbang Pertanian Rilis Parfum Hasil Diversifikasi Produk Tembakau. <http://kominfo.jatimprov.go.id/read/umum/litbang-pertanian-rilis-parfum-hasil-diversifikasi-produk-tembakau>. [Diakses pada tanggal 12 Mei 2017].
- Lestari, P.I. (2013). Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Teh terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus*. *Journal of Infectious Diseases ISSN 2354 - 6077*. Vol. 1 (01) : 29 – 38.
- Maligan, J. M., Heni Adhinata., Elok Zubaidah. (2016). Produksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba dari Mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan Metode UAE (Kajian Jenis Pelarut dan Jumlah Siklus Ekstraksi). *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 17 (3) : 203 – 213.
- Nuraina. (2015). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Garcinia banthami* Pierre dengan Metode Dilusi. *Skripsi*. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Nurhaen., D. Winarsii dan A. Ridhoy. (2016). Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri dari Daun, Batang dan Bunga Tumbuhan Salembangu (*Melissa* sp.). *Online Journal of Natural Science*. Vol. 5 (2) : 149 – 157.
- Nurnasari, E dan Subiyakto. (2011). Komposisi Kimia Minyak Atsiri pada Beberapa Tipe Daun Tembakau (*Nicotiana tabaccum* L.). *Jurnal Ilmu – ilmu Hayati*. Vol. 10 (5) : 571 – 580.
- Paramartha, D., dan Lazuardi, Yuda. (2013). Pemanfaatan Nikotin pada Daun Tembakau untuk Memproduksi Bioinsektisida dengan Proses Ekstraksi Cair – Cair. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 2 (2) : 234.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. (2014). *Outlook Komoditi Tembakau*. Jakarta : ISSN 1907–1507.
- Rahayu, T., dan Tuti R. (2009). Uji Antijamur Kombucha Coffee terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Vol. 10 (1) : 10 – 17.
- Tanjung, A. (2007). Rancang Bagun Alat Pengering Gabah Tipe Bak Segitiga. *Skripsi*. Lampung : Fakultas Pertanian UNILA.
- Wardana, H.K.. (2006). Analisis Distribusi Suhu, Aliran Udara, Kadar Air pada Pengeringan Daun Tembakau Rajangan Madura. *Seminar Nasional Jurusan Fisika FMIPA UM ISBN 978 – 602. 23 – 28*.
- WHO. (2009). *Laboratory Manual for Diagnosis of Fungal Opportunistic Infections in HIV/AIDS Patients*. India : World Helath House.

-
- Widiyanto, A., dan Mohamad Siarudin. (2013). Karakteristik Daun dan Rendemen Minyak Atsiri Lima Jenis Tumbuhan Kayu Putih (*Characteristics of Leaf and Essential Oil Yield of Five Cajuput Tree Species*). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan ISSN : 0216 – 4329*. Vol. 31 (4) : 235 – 241.
- Yulianto, F.T., Lia Umi Khasanah., R. Baskara Katri Anandito. (2012). Pengaruh Ukuran Bahan dan Metode Destilasi (Destilasi Air dan Destilasi Uap – Air) terhadap Kualitas Minyak Atsiri Kulit Kayu Manis (*Cinnamon burmannii*). *Jurnal Teknosains Pangan ISSN : 2302 – 0733*. Vol. 1 (1) : 12 – 23.
- Zoric, N., Nevenka Kopjar., Ivan Bobnjarić., Igor Horvat., Sinisa Tomic., dan Ivan Kosalec. (2016). Antifungal Activity of Oleuropein against *Candida albicans* – The In Vitro Study. *Article Molecules : 21121631*.