

**Analisis perbandingan daya hambat ekstrak pirolisis
dan ekstrak maserasi tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) var virginia
terhadap *Candida albicans* secara in vitro**

¹Aulia Hanifatur Rosyida, ²Andri Pramesyanti Pramono, ²Meiskha Bahar, ²Oktania Sandra Puspita

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta

Email: auliahr99@gmail.com

Abstrak. Tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan salah satu komoditas yang menguntungkan sehingga banyak ditanam oleh petani di Indonesia dengan varietas virginia yang cukup tinggi jumlah produksinya. Tembakau diketahui memiliki aktivitas antibakteri, antivirus, dan antijamur. Untuk mendapatkan efek tersebut, tembakau dapat diekstraksi menggunakan metode pirolisis dan maserasi. Ekstrak tembakau mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan terpenoid yang memiliki aktivitas antijamur. Jamur *Candida albicans* merupakan salah satu jamur yang dapat menyebabkan infeksi di berbagai organ tubuh, salah satunya adalah telinga, disebut juga otomikosis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan daya hambat ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi tembakau terhadap pertumbuhan *C. albicans* secara in vitro. Penelitian merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan masing-masing konsentrasi ekstrak 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100% yang dimasukkan ke sumuran. Data diperoleh dari diameter zona hambat di sekitar sumuran. Uji *One-way ANOVA* menunjukkan bahwa antara masing-masing konsentrasi ekstrak pirolisis maupun ekstrak maserasi tembakau memiliki perbedaan secara signifikan. Uji *Post Hoc* menunjukkan perbedaan yang signifikan pada ekstrak pirolisis konsentrasi 20% dengan 60%; 80%; dan 100%, konsentrasi 40% dengan 80% dan 100%. Sementara uji *post hoc* pada ekstrak maserasi menunjukkan perbedaan yang signifikan antar konsentrasi 20% dan 100%. Ekstrak pirolisis memiliki daya hambat yang lebih kuat dibanding ekstrak maserasi. Konsentrasi 100% pada kedua ekstrak memiliki daya hambat paling besar. Hal ini terjadi karena terdapat senyawa penghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* yaitu alkaloid, flavonoid, dan terpenoid yang terkandung dalam ekstrak pirolisis dan maserasi daun tembakau yang.

Kata Kunci: Antijamur, *Candida albicans*, Daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.), Maserasi, Pirolisis

Abstract. Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) is one of the profitable commodities, so it is widely planted by farmers in Indonesia with the virginia variety, which is quite high in production. Tobacco is known to have antibacterial, antiviral, and antifungal activity. To get this effect, tobacco can be extracted using pyrolysis and maceration methods. Tobacco contains alkaloids, flavonoids, and terpenoids which have antifungal activity. *Candida albicans* is a fungus that can cause infections in various organs, like the ear, also known as otomycosis. This study aims to determine the comparison of the inhibition of pyrolysis extract and macerated tobacco extract on the growth of *C. albicans* in vitro. This research is a laboratory experimental study with extract concentrations of 20%; 40%; 60%; 80%; and 100%. Data obtained from the diameter of the inhibition zone around the well. One-way ANOVA test showed that there was a significant difference between the concentrations of pyrolysis extract and maceration extract of tobacco. Post Hoc test showed significant differences in pyrolysis extract at concentrations of 20% with 60%; 80%; and 100%, concentrations of 40% with 80% and 100%. The post hoc test on maceration extract showed a significant difference between the concentrations of 20% and 100%. Pyrolysis extract has a stronger inhibitory power than maceration extract. The concentration of 100% in both extracts had the greatest inhibitory power. This happened because there were compounds inhibiting the growth of the fungus *C. albicans*, namely alkaloids, flavonoids, and terpenoids contained in the pyrolysis extract and maceration of tobacco leaves.

Keywords: Antifungal, *Candida albicans*, Maceration, Pyrolysis, Tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.)

Pendahuluan

Tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) adalah salah satu komoditas Indonesia yang menguntungkan. Hal ini menyebabkan banyak petani di Indonesia memilih untuk menanam tembakau. Berdasarkan data produksi tembakau Perkebunan Rakyat (PR) terdapat 15 provinsi di Indonesia yang memproduksi tembakau. Pada data 5 tahun terakhir, provinsi Jawa Timur sangat berkontribusi dalam memproduksi tembakau dengan angka paling tinggi 99,743 ton dengan luas perkebunan mencapai 108,524 hektar pada tahun 2016. Di antara varietas tembakau, varietas virginia menjadi varietas yang cukup tinggi jumlah produksinya yaitu mencapai 59.385 ton/tahun.¹

Tanaman tembakau bersama cengkih sebagian besar digunakan sebagai bahan baku rokok. Sementara itu, setiap tahun pemerintah menaikkan harga cukai sehingga pabrik rokok akan memangkas jumlah pembelian bahan baku rokok yang pada akhirnya merugikan petani cengkih dan tembakau. Selain itu, maraknya promosi kesehatan tentang bahaya merokok membuat masyarakat sadar dan memilih untuk berhenti merokok sehingga dapat menurunkan produksi rokok. Berdasarkan hal tersebut, pemerintah berupaya melalui PP No. 109 tahun 2012 Pasal 58 ayat (1) mendukung diversifikasi produk olahan tembakau yang penggunaannya akan membawa manfaat bagi kesehatan. Diversifikasi produk tanaman tembakau yang sudah dihasilkan diantaranya adalah daun tembakau untuk pestisida nabati atau dalam bentuk bio-oil yang dapat dihasilkan dari metode ekstraksi pirolisis, debu tembakau (rontokan daun tembakau di gudang) sebagai kompos serta minyak atsiri yang mengandung neofitadiena yang bersifat antiserangga, antijamur, dan antiseptik. Untuk mendapatkan suatu ekstrak tembakau, terdapat berbagai macam metode yang dapat digunakan, dua diantaranya adalah metode pirolisis dan metode maserasi. Metode pirolisis menghasilkan bio-oil sebagai output. Menggunakan metode ini, banyak zat aktif dan juga presentase rendemen (berat ekstrak yang diperoleh dibagi dengan berat simplisia sebelum diekstraksi) yang didapatkan. Pada penelitian oleh Wulan, dkk (2014), presentase rendemen (*yield*) mencapai 24% dengan suhu optimum 600°C [3]. *Bio-oil* dari biomassa tembakau memiliki aktivitas antijamur, antibakteri, dan insektisida [4]. Sementara itu, metode ekstraksi lain yang sering digunakan adalah maserasi. Pada penelitian oleh Nurmesa, dkk. (2019), dari hasil maserasi menggunakan pelarut etanol 96% diperoleh presentase rendemen sebesar 11,23% [5]. Peneliti di dunia menggunakan ekstrak tembakau untuk meneliti aktivitas antibakteri,

antivirus, dan antijamur [6].

Spesies jamur yang sering menyebabkan infeksi pada tubuh manusia adalah jamur *Candida albicans*. Pada manusia, spesies ini merupakan bagian dari flora normal, namun pada keadaan oportunistik dapat berkembang menjadi patogen yang menginfeksi. Infeksi dapat terjadi di berbagai organ tubuh. Salah satu organ yang dapat terkena infeksi adalah telinga. Infeksi jamur pada telinga, disebut juga otomikosis, terjadi pada kanal auditori eksterna. Otomikosis terdistribusi di seluruh dunia dengan perkiraan sekitar 25% dari kasus infeksi telinga adalah disebabkan oleh jamur, dan penyakit ini memiliki prevalensi lebih tinggi di iklim yang hangat dan lembab [7]. Di Indonesia, poliklinik Otologi THT-KL RS Hasan Sadikin Bandung mencatat 7,45% dari seluruh total pasien bulan Januari hingga Desember 2012 mengalami otomikosis [8]. *Aspergillus* spp. dan *Candida* spp. merupakan jamur yang sering diisolasi dari pasien dengan otomikosis [9].

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk meneliti tentang daya hambat ekstrak tembakau (*N. tabacum*) var Virginia terhadap pertumbuhan *C. albicans* secara in vitro. Peneliti tertarik untuk membandingkan ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi tembakau dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Metode penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode *true experimental* yang membandingkan antara ekstrak pirolisis dengan ekstrak maserasi daun tembakau terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau didapatkan dari Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia. Dalam penelitian ini, terdapat 5 kelompok konsentrasi pada ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi, masing-masing yaitu 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100%. Pada ekstrak pirolisis, digunakan pengencer propilen glikol sementara pada ekstrak maserasi digunakan akuades. Berdasarkan rumus Federer, penelitian ini menggunakan 3 sampel pada setiap konsentrasi. Kontrol negatif menggunakan akuades dan propilen glikol dan kontrol positif menggunakan ketokonazol. Digunakan ketokonazol 2% sediaan *cream* dan dipanaskan hingga mencair.

Berikutnya, membuat suspensi jamur *C. albicans* dengan kekeruhan yang setara dengan standar Mc Farland 0,5. Pada Mc Farland 0,5, diperkirakan terdapat $1-5 \times 10^6$ yeast cell/mL [10]. Selanjutnya, dilakukan pembuatan media Sabouraud's Dextrose Agar dan dituang ke dalam cawan petri yang telah

steril. Pembuatan sumuran menggunakan cork borer dilakukan ketika SDA tersebut sudah memadat. Setelah itu, suspensi jamur disuspensikan dengan SDA lain dan dituang ke cawan petri dan ditunggu lagi hingga memadat.

Cork borer dapat dilepas apabila SDA sudah memadat. Dari *cork borer* yang telah dilepas inilah terbentuk sumuran dengan diameter 6 mm yang kemudian diisi dengan ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi berbagai konsentrasi. Ekstrak diteteskan menggunakan pipet dengan volume 0,1 mL hingga memenuhi sumuran. Zat-zat antijamur dari ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau akan berdifusi ke SDA dan akan menghambat pertumbuhan serta perkembangan jamur yang selanjutnya dapat menyebabkan kematian jamur *C. albicans*.

Cawan petri yang telah siap dimasukkan ke dalam inkubator, dan dilakukan inkubasi selama 24 jam. Ketika sudah mencapai 24 jam, dilihat zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran dan diukur diameter dari zona bening tersebut menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji *One-way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antijamur pada ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Apabila terdapat adanya perbedaan yang bermakna maka dilakukan uji *post hoc* Tukey yang juga dikenal dengan sebutan *Honestly Significance Difference* (HSD) untuk mengetahui perbedaan rata-rata diameter zona bening pada ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi.

Hasil

Pada penelitian ini, didapatkan hasil terdapat daya hambat ekstrak pirolisis dan juga ekstrak daun tembakau maserasi terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Berikut adalah data hasil pengukuran zona bening ekstrak pirolisis dan maserasi daun tembakau terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Data tabel 1 menunjukkan bahwa nilai rata-rata diameter zona bening ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau terhadap pertumbuhan *C. albicans* meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi yang diberikan. Zona bening paling besar terdapat pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter ekstrak pirolisis 25,61 cm dan ekstrak maserasi 7,34 cm. Dibanding dua ekstrak tersebut, zona hambat ketokonazol lebih besar rata-ratanya.

Tabel 1 Hasil Pengukuran Zona Bening Ekstrak Pirolisis dan Ekstrak Maserasi Daun Tembakau terhadap *C. albicans*

Kelompok		Diameter Zona Hambat Ekstrak terhadap <i>C. albicans</i>	
		Ekstrak pirolisis (mean±SD)	Ekstrak maserasi (mean±SD)
Kontrol positif	3	37,57 ± 0,56	33,20 ± 1,16
Kontrol negatif	3	0	0
Konsentrasi 20%	3	16,40 ± 0,89	5,05 ± 0,77
Konsentrasi 40%	3	20,09 ± 1,69	5,51 ± 0,55
Konsentrasi 60%	3	22,22 ± 1,25	5,69 ± 0,52
Konsentrasi 80%	3	24,85 ± 2,42	6,63 ± 0,51
Konsentrasi 100%	3	25,61 ± 2,29	7,34 ± 0,50

Keterangan: SD = Standar Deviasi

Berdasarkan penggolongan kekuatan daya antijamur Davis dan Stout, ekstrak pirolisis daun tembakau rata-rata memiliki kategori daya antijamur sangat kuat (sangat kuat pada diameter lebih dari 20 mm), namun terdapat satu konsentrasi, yaitu 20%, yang dikategorikan sebagai daya antijamur kuat (daya hambat kuat untuk diameter 11-20 mm). Sementara itu, semua konsentrasi ekstrak maserasi daun tembakau memiliki daya antijamur yang tergolong sedang (diameter 5-10 mm) terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Selanjutnya, dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas pada data-data tersebut dan diperoleh data diameter zona hambat ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi berdistribusi normal dan bersifat homogen. Maka dari itu, syarat telah terpenuhi untuk dilakukan uji *One-way ANOVA*. Pada uji tersebut, didapatkan hasil nilai Sig. kurang dari 0,05 pada data ekstrak pirolisis dan maserasi. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antijamur pada ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*.

Uji *post hoc* dilakukan menggunakan Uji Tukey (*Honestly Significant Difference* / HSD) untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan pada data antar kelompok. Tabel berikut menunjukkan hasil uji *post hoc* pada penelitian ini.

Tabel 2 Hasil Uji *Post Hoc* (Uji Tukey) Zona Hambat Ekstrak Pirolisis Daun Tembakau terhadap *C. albicans*

Konsentrasi Ekstrak Daun Tembakau		Nilai Sig. Uji <i>Post Hoc</i>	
		Ekstrak Pirolisis	Ekstrak Maserasi
20%	40%	0,124	0,964
	60%	0,008	0,868
	80%	0,000	0,139
	100%	0,000	0,018
	Kontrol positif	0,000	0,000
40%	20%	0,124	0,964
	60%	0,604	0,999
	80%	0,033	0,423
	100%	0,010	0,069
	Kontrol positif	0,000	0,000
60%	20%	0,008	0,868
	40%	0,604	0,999
	80%	0,398	0,601
	100%	0,150	0,117
	Kontrol positif	0,000	0,000
80%	20%	0,000	0,139
	40%	0,033	0,423
	60%	0,398	0,601
	100%	0,980	0,820
	Kontrol positif	0,000	0,000
100%	20%	0,000	0,018
	40%	0,010	0,069
	60%	0,150	0,117
	80%	0,980	0,820
	Kontrol positif	0,000	0,000
Kontrol positif	20%	0,000	0,000
	40%	0,000	0,000
	60%	0,000	0,000
	80%	0,000	0,000
	100%	0,000	0,000

Pada Uji Tukey, apabila nilai signifikansi (Sig.) menunjukkan nilai kurang dari 0,05, maka terdapat perbedaan rata-rata luas zona hambat yang signifikan. Dari Tabel 2 dapat dinyatakan bahwa antara konsentrasi 20% ekstrak pirolisis dibandingkan dengan konsentrasi 60%; 80%; dan 100% memiliki nilai Sig. < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Pada perbandingan antara konsentrasi 40% dengan konsentrasi 80% dan 100% terdapat perbedaan rata-rata luas zona hambat yang signifikan. Perbandingan nilai Sig. antara konsentrasi 60%; 80%;

dan 100% tidak menunjukkan perbedaan daya hambat yang signifikan. Dari tabel di atas juga dapat dinyatakan bahwa rata-rata luas daya hambat ekstrak maserasi pada konsentrasi 100% memiliki perbedaan rata-rata luas daya hambat yang signifikan dibandingkan dengan ekstrak maserasi konsentrasi 20%. Selain konsentrasi tersebut, ekstrak maserasi antar konsentrasi tidak memiliki perbedaan rerata luas daya hambat yang signifikan.

Pembahasan

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui perbandingan daya hambat ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau (*N. tabacum*) dengan berbagai konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* secara in vitro. Menurut klasifikasi Davis dan Stout, ekstrak pirolisis memiliki daya antijamur lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak maserasi yang termasuk dalam kategori daya antijamur sedang. Kedua ekstrak juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak pirolisis maupun ekstrak maserasi, semakin luas daya hambat yang terjadi. Hal ini dapat terjadi karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin banyak zat yang terlarut sehingga semakin besar pula kemampuan antijamurnya. Konsentrasi 100% memiliki daya hambat paling besar dibandingkan konsentrasi lain.

Zat yang memiliki aktivitas antimikroba dan terkandung dalam ekstrak pirolisis tembakau antara lain adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan minyak esensial [11][12]. Pada penelitian lain disebutkan juga bahwa *bio-oil* dari pirolisis juga mengandung senyawa fenolik, asam asetat, keton, furan, dan turunan piran yang memiliki efek antijamur [13]. Daun tembakau ekstrak maserasi etanol mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid [14]. Dengan ekstraksi metode pirolisis, ekstrak mengandung lebih banyak zat aktif dan hasil lebih murni dibanding metode lain [14].

Tumbuh-tumbuhan banyak mengandung senyawa organik salah satunya berupa alkaloid.. Semua spesies dari genus *Nicotiana* L. memiliki ciri khas menghasilkan alkaloid piridin. Sementara nikotin dianggap sebagai alkaloid paling melimpah (~95%) dalam spesies *Nicotiana*, ada banyak alkaloid piridin lain yang terkait secara struktural di berbagai tanaman *Nicotiana* dan daunnya yang dikeringkan / diawetkan, terutama nornicotine, anabasine, dan anatabine [15]. Nikotin berpotensi toksik yang dapat menghambat metabolisme sel sehingga mengakibatkan perubahan pertumbuhan *Candida* [16].

Senyawa lain yaitu flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki berbagai macam variasi struktur. Tumbuhan dengan kandungan flavonoid diketahui banyak digunakan dalam *traditional medicine* (pengobatan tradisional) [17]. Flavonoid dapat menimbulkan reaksi dengan lipid dan asam amino yang terkandung dalam dinding sel dari *C. albicans* sehingga dinding sel dapat hancur dan senyawa dapat memasuki nukleus dari sel [18]. Mekanisme antijamur lain dari flavonoid yaitu dengan merusak plasma membran, menginduksi disfungsi mitokondria, dan menghambat pembentukan dinding sel, pembelahan sel, sintesis RNA dan protein, serta sistem pemompaan yang dimediasi efluks. Flavonoid juga mampu dan efisien digunakan dalam terapi kombinasi sinergis dengan obat konvensional, yang dapat lebih tepat dan mendukung untuk menemukan terapi obat baru terhadap patogen jamur [19].

Terpenoid merupakan senyawa yang juga ditemukan pada ekstrak tembakau. Terpenoid menjadi komponen utama penyusun minyak atsiri yang dapat ditemukan di bunga, daun, dan akar berbagai jenis tanaman. Mekanisme aktivitas anti-*Candida* dari terpenoid belum terlalu jelas, namun dilaporkan dapat memodulasi mevalonate pathway (MP), mengganggu kestabilan membran dan memodulasi fungsi terkait membran seperti permeabilitas, pensinyalan sel, yang dapat menyebabkan kematian sel [20]. Ada kemungkinan bahwa perubahan permeabilitas dan fluiditas membran yang dimediasi terpenoid mengakibatkan degradasi dinding sel, yang mempengaruhi adhesi / perlekatan *C. albicans* ke permukaan padat. Terdapat kemungkinan juga terpenoid menargetkan komponen seluler tertentu atau jalur pensinyalan yang terlibat dalam pembentukan hifa sehingga menghambat morfogenesis *C. albicans* [21].

Data selanjutnya diolah menggunakan uji *One-way ANOVA* dan didapatkan nilai Sig. kurang dari 0,05 pada ekstrak pirolisis dan juga ekstrak maserasi. Hasil tersebut berarti terdapat pengaruh pemberian ekstrak terhadap aktivitas antijamur atau juga dapat diartikan adanya daya hambat ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi tembakau terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas antimikroba berupa antijamur ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau. Selain itu, ditinjau dari uji *post hoc* yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa pada ekstrak pirolisis, konsentrasi terkecil dengan daya hambat yang besar terdapat pada konsentrasi 60% dengan kategori daya antijamur sangat kuat. Namun, ekstrak pirolisis konsentrasi 60% tidak memiliki beda yang

signifikan dengan konsentrasi 40% yang juga berada pada kategori daya antijamur sangat kuat, sehingga ekstrak pirolisis dengan konsentrasi 40% merupakan konsentrasi terkecil dengan daya antijamur sangat kuat. Sementara itu, pada ekstrak maserasi, didapatkan konsentrasi 100% yang memiliki beda signifikan dengan kategori antijamur yang sedang. Berdasarkan pengkategorian daya antijamur Davis dan Stout, ekstrak pirolisis memiliki daya antijamur lebih kuat dibandingkan ekstrak maserasi. Hal ini dapat terjadi karena metode pirolisis mengandung lebih banyak zat aktif dan hasil lebih murni dibanding metode lain [12].

Kesimpulan

Ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau (*N. tabacum* L.) var Virginia memiliki efektivitas daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*. Ekstrak pirolisis dapat menghambat dengan konsentrasi paling efektif adalah 40% dan konsentrasi paling efektif pada ekstrak maserasi adalah 100%. Selain itu, kekuatan daya hambat ekstrak pirolisis lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak maserasi daun tembakau terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*. Peneliti selanjutnya diharapkan untuk melakukan penelitian mengenai pemurnian senyawa bioaktif ekstrak pirolisis maupun ekstrak maserasi tembakau dan selanjutnya diteliti mengenai zat yang memiliki efektivitas antijamur paling optimum.

Daftar Pustaka

1. Nur YH, Salim Z. Daya Saing Tembakau Virginia Lokal: Analisis Rantai Nilai. Jurnal Ekonomi dan Pembangunan. 2014;22(1):1-0.
2. Nurnasari E, Subiyakto S. Diversifikasi produk tembakau non rokok diversification of non-cigarette tobacco products. Perspektif. 2019 Nov 19;17(1):40-51.
3. Wulan PP, Dawitri E. Tobacco leaves pyrolysis for repellent active compound production. International Journal of Applied Engineering Research. 2014 Jan 1;9(21):9739-50.
4. Booker CJ, Bedmutha R, Vogel T, Gloor A, Xu R, Ferrante L, Yeung KK, Scott IM, Conn KL, Berruti F, Briens C. Experimental investigations into the insecticidal, fungicidal, and bactericidal properties of pyrolysis bio-oil from tobacco leaves using a fluidized bed pilot plant. Industrial & Engineering Chemistry Research. 2010 Oct 20;49(20):10074-9.
5. Nurmesa A, Nurhabibah N, Najihudin A. Formulasi Dan Evaluasi Stabilitas Fisik Patch Transdermal Alkaloid Nikotin Daun Tembakau

- (*Nicotiana tabacum* Linn) DENGAN Variasi Polimer dan Asam Oleat. Jurnal Penelitian Farmasi & Herbal. 2019 Oct 29;2(1):1-8.
6. Bakht J, Azra, Shafi M. Antimicrobial activity of *Nicotiana tabacum* using different solvents extracts. Pakistan Journal of Botany. 2012 Feb 1;44(1):459-63.
 7. Abdelazeem M, Gamea A, Mubarak H, Elzawawy N. Epidemiology, causative agents, and risk factors affecting human otomycosis infections. Turkish journal of medical sciences. 2015 Jul 23;45(4):820-6.
 8. Sulaiman E, Purwanto B, Lasminingrum L, Dewi YA, Mahdiani S. Potency of Vinegar Therapy in Otomycosis Patients. Journal of Medicine and Health. 2015 Aug 31;1(2).
 9. Vennewald I, Klemm E. Otomycosis: diagnosis and treatment. Clinics in dermatology. 2010 Mar 1;28(2):202-11.
 10. Hong SB, Rashid MB, Santiago-Vázquez LZ. Methods in biotechnology. John Wiley & Sons; 2016 Aug 1.
 11. Fernanda SA, Amru BA, Rahmani HA, Gozan M, Irsyad NS, Bahar M, Puspita OS, Zulfa F, Pramono A. Antibacterial Potential of *Nicotiana tabacum* L. var *Virginia* Pyrolysis Extract Against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 2021 Apr 1 (Vol. 755, No. 1, p. 012013). IOP Publishing.
 12. Putra DA, Pramono A, Fauzantoro A, Gozan M. The effect of tobacco leaves pyrolysis extract (*Nicotiana tabacum* L. var. *Virginia*) against the formation of biofilm by *Staphylococcus aureus*: An in-vitro study. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 2019 Apr 1 (Vol. 508, No. 1, p. 012147). IOP Publishing.
 13. Mattos C, Veloso MC, Romeiro GA, Folly E. Biocidal applications trends of bio-oils from pyrolysis: Characterization of several conditions and biomass, a review. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. 2019 May 1;139:1-2.
 14. Putri RH, Barid I, Kusumawardani B. Daya hambat ekstrak daun tembakau terhadap pertumbuhan mikroba rongga mulut. STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi. 2016 May 1;11(2):27-31.
 15. Moghbel N, Ryu B, Ratsch A, Steadman KJ. Nicotine alkaloid levels, and nicotine to normicotine conversion, in Australian *Nicotiana* species used as chewing tobacco. Heliyon. 2017 Nov 1;3(11):e00469.
 16. Gunasegar S, Himratul-Aznita WH. Influence of nicotine on the adherence of *Candida albicans* ATCC 14053 and *Candida parapsilosis* ATCC 22019 and expression of selected binding-related genes. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2017 Jul 4;31(4):807-14.
 17. Kristanti AN, editor. Fitokimia. Airlangga University Press; 2019 Jan 7.
 18. Widiana ED, Tarsikah N, Naimah N. The Effectiveness Of Rose Flower (*Rosa chinensis* Jacq) On *Candida albicans* Colonies In Jelly (Sabouraud Dextrose Agar) Media. Public Health of Indonesia. 2019 Apr 3;5(1):8-13.
 19. Al Aboody MS, Mickymaray S. Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. Antibiotics. 2020 Feb;9(2):45.
 20. Zore GB, Thakre AD, Jadhav S, Karuppayil SM. Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. Phytomedicine. 2011 Oct 15;18(13):1181-90.
 21. Raut JS, Shinde RB, Chauhan NM, Mohan Karuppayil S. Terpenoids of plant origin inhibit morphogenesis, adhesion, and biofilm formation by *Candida albicans*. Biofouling. 2013 Jan 1;29(1):87-96.