

## Analisis perbandingan daya hambat ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi *Nicotiana tabacum* Var. Virginia terhadap *Aspergillus niger* secara In Vitro

<sup>1</sup>Kholda Taqiyun, <sup>1</sup>Andri Pramesyanti Pramono, <sup>1</sup>Meiskha Bahar, <sup>1</sup>Oktania Sandra P.

<sup>1</sup>Universitas Pembangunan Nasional Veteran  
Email: andri.pramseti@gmail.com

**Abstrak.** *Aspergillus niger* merupakan salah satu jamur penyebab tersering penyakit otomikosis. Tingginya rekurensi penyakit ini dapat meningkatkan risiko terjadinya resistansi terhadap agen antifungal sehingga diperlukan pencarian alternatif antijamur yang berasal dari herbal. Daun tembakau diketahui memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, dan terpenoid, yang mampu menghambat pertumbuhan jamur. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui perbandingan daya hambat ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) sebagai antijamur terhadap jamur *A. niger* secara in vitro. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan sampel ekstraksi pirolisis dan maserasi daun tembakau pada konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100%. Metode uji antijamur yang digunakan adalah metode difusi sumuran dengan melihat zona hambat pertumbuhan jamur di sekitar sumuran. Analisis uji *One-way* ANOVA dengan nilai  $p < 0,05$  menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada masing-masing ekstraksi dalam menghambat *A. niger*. Hasil rata-rata zona hambat terbesar yang terbentuk pada ekstrak pirolisis dan maserasi adalah 36,72 mm dan 16,05 mm. Berdasarkan hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa kandungan alkaloid, flavonoid, dan terpenoid yang terdapat pada ekstrak pirolisis dan maserasi daun tembakau memiliki sifat sebagai antijamur dalam menghambat pertumbuhan *A. niger*.

Kata kunci: Antijamur, *Aspergillus niger*, daun tembakau (*Nicotiana tabacum*), pirolisis, maserasi

**Abstract.** *Aspergillus niger* is one of the most common fungi that can cause otomycosis. The high recurrence rate of this disease can increase the risk of resistance to antifungal agents, so it is necessary to search for antifungal alternatives derived from herbs. Tobacco leaves are known to contain alkaloids, flavonoids, and terpenoids, which can inhibit fungal growth. The purpose of this study was to compare the inhibition of pyrolysis extract and maceration extract of tobacco leaves (*Nicotiana tabacum*) as antifungals against the growth of *A. niger* in vitro. This study used an experimental method with samples of pyrolysis extraction and maceration extraction of tobacco leaves at concentrations of 20%; 40%; 60%; 80%; and 100%. The antifungal test method used is the well diffusion method by observing the fungal growth inhibition zone around the well. *One-way* ANOVA test analysis with  $p$ -value  $< 0.05$  showed that there were significant differences in each extraction in inhibiting *A. niger*. The average results of the largest inhibition zones formed in the pyrolysis and maceration extracts were 36.72 mm and 16.05 mm, respectively. Based on the results of this study, it was shown that the content of alkaloids, flavonoids, and terpenoids found in the pyrolysis and maceration extracts of tobacco leaves had antifungal properties in inhibiting the growth of *A. niger*.

Keywords: Antifungal, *Aspergillus niger*, tobacco leaf (*Nicotiana tabacum*), pyrolysis, maceration

### Pendahuluan

Indonesia mempunyai banyak komoditas yang memiliki harga jual yang tinggi, salah satunya adalah tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*). Negara Indonesia adalah salah satu negara yang memproduksi tembakau di dunia, dengan penghasil tanaman tembakau paling tinggi adalah Jawa Timur sekitar 83.404 ton/tahun (Nur dan Salim, 2014). Tanaman tembakau, terutama bagian daunnya dijadikan sebagai

bahan utama pembuatan rokok. Rokok terkenal sebagai produk yang bernilai jual tinggi, yang dapat membantu meningkatkan ekonomi nasional, sebagai sumber kas negara, sumber pendapatan pemerintah dan pajak, serta sumber pendapatan petani dan sebagai lapangan kerja bagi masyarakat (usahatani dan pabrik rokok) (Prasetyo, Subekti dan Mustapit, 2019).

Pemerintah Indonesia mendorong dalam pencarian alternatif lain dari produk tembakau dengan mengeluarkan kebijakan diversifikasi produk tembakau. Kebijakan tersebut tertera di dalam

Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No.109 tahun 2012 yang mengatur tentang Pengamanan Bahan Yang Mengandung Zat Adiktif Berupa Produk Tembakau Bagi Kesehatan. Berbagai hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun tembakau dapat dijadikan sebagai alternatif berbagai bahan kimia dasar dalam dunia industri, terutama industri kimia dan industri farmasi.

Alternatif dari penggunaan tanaman tembakau dalam industri farmasi salah satunya adalah sebagai obat herbal. Pada tahun 1990 hingga 1997, terdapat peningkatan tren dalam penggunaan obat herbal sebesar 34% menjadi 42%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Welz *et al.* pada tahun 2018, peningkatan penggunaan obat herbal disebabkan oleh beberapa penyebab, seperti pengalaman pengobatan konvensional yang gagal dalam menyembuhkan suatu penyakit, obat herbal yang dipercaya lebih aman (tanpa efek samping), mengobati penyakit ringan hingga sedang, dan meneruskan tradisi keluarga. Di Indonesia sendiri, telah dilakukan penelitian mengenai prevalensi penggunaan obat herbal di daerah Jawa Barat menunjukkan nilai sebesar 68% dari seluruh responden (Rahayu *et al.* 2020).

Penggunaan tanaman tembakau sebagai obat herbal, bagian yang berperan penting adalah berbagai senyawa antimikroba yang terkandung di dalam ekstrak tanaman tembakau. Beberapa metode yang dapat digunakan untuk mendapatkan ekstrak tembakau, seperti metode maserasi, perkolasi, pirolisis, dan sebagainya. Menurut beberapa penelitian sebelumnya, diketahui senyawa antimikroba tersebut diantaranya seperti flavonoid, saponin, steroid, alkaloid, terpenoid, polifenol dan nikotin (Patil *et al.* (2015); Duangsri *et al.* (2012); dan Zaidi *et al.* (2012)). *Aspergillus niger* merupakan salah satu jamur penyebab tersering infeksi telinga yang disebut dengan otomikosis. Otomikosis sendiri merupakan kondisi yang umum ditemukan di klinik THT dengan kondisi dan gejala otitis eksterna. Beberapa faktor predisposisi diantaranya seperti iklim lembab, trauma, kondisi telinga yang tidak higienis, penumpukan serumen, instrumentasi telinga, peningkatan penggunaan antibiotik topikal, host *immunocompromised*, pasien yang telah melakukan mastoidectomy rongga terbuka, dan mereka yang menggunakan alat bantu dengar. Infeksi umumnya unilateral dan ditandai dengan adanya peradangan, pruritus, *scalling*, otalgia, otorrhoea gangguan pendengaran, dan tinnitus. Tata laksana pengobatan diantaranya debridemen lokal, agen antijamur lokal dan sistemik, serta menghentikan antibiotik topikal. Penyakit ini umumnya mudah ditangani, namun membutuhkan waktu yang cukup lama dengan tingginya rekurensi penyakit dan resistensi terhadap

agen antifungal (Anwar & Gohar (2014) dan Ali *et al.* (2018)).

Terdapat berbagai varietas tembakau yang dapat dibudidayakan di Indonesia, salah satunya adalah varietas Virginia. Varietas ini memiliki kelebihan berupa cocok ditanam di Indonesia, terutama pada kondisi tanah yang kering dan tidak membutuhkan curah hujan yang tinggi (Sholeh, 2012). Selain itu, varietas ini cenderung tahan terhadap infeksi jamur *P. nicotianae* dan bakteri *R. solanacearum* yang dapat merusak tanaman tembakau (Badan Litbang Pertanian, 2017).

## Metode penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui perbandingan pengaruh pemberian ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) terhadap jamur *Aspergillus niger* menggunakan metode pirolisis dan maserasi pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Menggunakan mikonazol nitrat 2% sebagai kontrol positif dengan pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali berdasarkan hasil perhitungan rumus Federer.

Beberapa alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas beker, tabung reaksi, rak tabung, kapas, cawan petri, ose, bunsen, korek api, inkubator, *autoclave*, jangka sorong / penggaris, mikropipet, dan pinset. Bahan-bahan penelitian yang digunakan seperti ekstrak pirolisis dan maserasi daun tembakau (*N. tabacum*), isolat *Aspergillus niger*, propilen glikol, akuades, mikonazol nitrat 2%, suspensi standar 0,5 McFarland, NaCl 0,9 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, dan BaCl<sub>2</sub> 1,175%.

Uji penghambatan ekstrak tembakau terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dilakukan dengan metode sumuran dengan membuat lubang pada SDA menggunakan *cork borer* yang diameternya telah disesuaikan dengan diameter cakram disk (6 mm). Kemudian campurkan suspensi jamur *A. niger* yang sudah distandarisi dengan 0,5 McFarland ke dalam SDA cair dan dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi SDA padat sebagai lapisan kedua. Setelah SDA memadat, *cork borer* dilepas dengan menggunakan pinset. Masukkan setiap konsentrasi ekstrak tembakau ke dalam setiap lubang dan cawan petri disimpan pada suhu ruangan selama 24 jam. Efektivitas antijamur dapat diketahui dari zona bening yang terbentuk di sekitar lubang yang diukur menggunakan jangka sorong.

Data hasil dari penelitian dianalisis dengan menggunakan uji *One-way* ANOVA untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan antara kelompok-kelompok yang diuji. Sebelumnya terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas dengan syarat nilai signifikansi

( $p > 0,05$ ). Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* (Tukey HSD) untuk melihat perbedaan bermakna pada masing-masing perlakuan.

**Hasil penelitian**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai daya hambat ekstrak pirolisis dan maserasi daun tembakau sebagai antijamur terhadap *Aspergillus niger* dengan menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% menunjukkan gambaran adanya daya hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling sumuran pada masing-masing kelompok konsentrasi. Penelitian ini diuji dengan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Pada penelitian ini, zona bening yang terbentuk dinilai dengan menggunakan jangka sorong digital untuk menentukan jika ekstrak tembakau varietas Virginia dapat menghambat pertumbuhan jamur *A. niger*. Hasil penelitian dapat dilihat pada tabel berikut.

**Tabel 1** Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Pirolisis dan Maserasi Daun Tembakau Terhadap Pertumbuhan *A. niger* Secara In Vitro

Kelompok	n	Diameter Zona Hambat	
		Ekstrak Pirolisis (mean±SD)	Ekstrak Maserasi (mean±SD)
Kontrol (+)	3	18,05 ± 1,30	18,26 ± 1,11
Kontrol (-)	3	0	0
Konsentrasi 20%	3	19,67 ± 1,81	0
Konsentrasi 40%	3	23,72 ± 0,28	8,15 ± 0,45
Konsentrasi 60%	3	28,36 ± 0,51	8,88 ± 0,67
Konsentrasi 80%	3	32,42 ± 2,57	14,66 ± 0,40
Konsentrasi 100%	3	36,72 ± 1,48	15,61 ± 0,38

Keterangan:  
 N = besar sampel  
 SD = standar deviasi

Tabel di atas memperlihatkan bahwa kelompok kontrol negatif (propilene glikol) tidak memiliki daya hambat (0 mm). Pada kelompok ekstrak pirolisis, nilai rata-rata zona bening yang terbentuk di konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100 %, yaitu sebesar 19,67

mm; 23,72 mm; 28,36 mm; 32,42 mm; dan 36,72 mm. Sedangkan kelompok kontrol positif (mikonazole nitrate 2%) menghasilkan zona bening dengan nilai rata-rata sebesar 18,05 mm.

Sedangkan pada kelompok ekstrak maserasi memperlihatkan nilai rata-rata zona bening yang terbentuk di konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100 % , yaitu sebesar 0 mm; 8,15 mm; 8,88 mm; 14,66 mm; dan 15,61 mm. Pada kelompok kontrol negatif (akuades) menunjukkan nilai rata-rata zona bening sebesar 0 mm. Kelompok kontrol positif (mikonazole nitrate 2%) menghasilkan zona bening dengan nilai rata-rata 18,26 mm.

Pada penelitian ini terdapat peningkatan daya hambat pada setiap kenaikan konsentrasi ekstrak daun tembakau yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan rata-rata diameter zona bening yang terbentuk seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun tembakau. Hal tersebut berkaitan dengan konsentrasi ekstrak yang mempengaruhi penyerapan senyawa antifungi. Tingginya nilai konsentrasi ekstrak yang diuji, maka akan sejalan dengan tingginya kandungan zat aktif didalamnya sehingga lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur dan zona bening yang terbentuk lebih luas (Munfaati *et al.*, 2015).

Penelitian ini membuktikan bahwa masing-masing ekstrak pirolisis dan maserasi daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) menunjukkan memiliki aktivitas sebagai antijamur terhadap jamur uji. Ekstrak daun tembakau diketahui memiliki sifat sebagai antimikroba dimana memiliki kandungan fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid (Puspita 2011, hlm.19).

Senyawa flavonoid pada ekstrak tembakau memiliki fungsi dalam menghambat terbentuknya spora jamur. Senyawa flavonoid akan berikatan dengan dinding sel jamur melalui ikatan kompleks hidrogen dengan protein-fenol. Ikatan ini kemudian mengakibatkan terjadinya pemecahan rantai ikatan hidrogen pada dinding sel. Selanjutnya kerusakan pada dinding sel jamur menyebabkan kebocoran sel, sehingga matriks intraseluler jamur keluar dan jamur mati (Putri 2014, hlm.30). Senyawa alkaloid juga dapat menyebabkan protein dalam jamur mengendap dan merusak sel, sehingga menghambat pertumbuhan jamur (Amilia *et al.* (2020)). Kandungan senyawa alkaloid berupa nikotin pada tanaman tembakau juga memiliki peran dalam menghambat pertumbuhan jamur (Puspita,

2011). Selain itu, beberapa penelitian lainnya menunjukkan daun tembakau juga memiliki kandungan seperti steroid (triterpenoid) dan sembranoid (diterpenoid) (Wati, 2019; Duan *et al.*, 2016). Mekanisme terpenoid dalam menghambat pertumbuhan jamur dengan cara mengganggu gaya gerak proton, aliran elektron, transport aktif, dan koagulasi isi sel. Selanjutnya, hal tersebut menyebabkan gangguan pada membran plasma, sehingga mengakibatkan perubahan permeabilitas membran dan kebocoran sel (Roy 2019, hal.198).

### Pembahasan

Data hasil penelitian dilakukan analisis uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene's test*. Hasil uji normalitas dan homogenitas data didapatkan nilai  $p > 0,05$  pada masing-masing kelompok ekstrak pirolisis dan maserasi. Selanjutnya dilakukan uji *One-Way ANOVA* dan didapatkan nilai  $p < 0,05$  pada masing-masing kelompok ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak pirolisis dan maserasi daun tembakau varietas Virginia memiliki sifat sebagai antijamur terhadap jamur *Aspergillus niger*.

**Tabel 2** Hasil Uji *Post Hoc* Tukey HSD

Konsentrasi Ekstrak	Nilai Sig.		
	Ekstrak Pirolisis	Ekstrak Maserasi	
20%	40%	<b>0,061</b>	0,000
	60%	0,000	0,000
	80%	0,000	0,000
	100%	0,000	0,000
40%	20%	<b>0,061</b>	0,000
	60%	0,028	<b>0,684</b>
	80%	0,000	0,000
	100%	0,000	0,000
60%	20%	0,000	0,000
	40%	0,028	<b>0,684</b>
	80%	<b>0,060</b>	0,000
	100%	0,000	0,000
80%	20%	0,000	0,000
	40%	0,000	0,000
	60%	<b>0,060</b>	0,000
	100%	0,044	0,430
100%	20%	0,000	0,000
	40%	0,000	0,000
	60%	0,000	0,000
	80%	0,044	0,430

Kemudian data penelitian dilakukan uji *Post-Hoc* Tukey HSD untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna dari hasil perlakuan kelompok konsentrasi masing-masing ekstrak pirolisis dan ekstrak maserasi daun tembakau terhadap jamur *Aspergillus niger*. Hasil Uji *Post-Hoc* memperlihatkan bahwa pada kelompok ekstrak pirolisis daun tembakau konsentrasi 20% dengan 40%, 20% dengan kontrol positif, dan 60% dengan 80% terhadap *A. niger* memiliki signifikansi  $p > 0,05$  yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna. Sedangkan kelompok konsentrasi lainnya dan kelompok kontrol memiliki signifikansi  $p < 0,05$  yang menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok-kelompok tersebut. Selanjutnya pada kelompok konsentrasi 40% dengan 60% dan konsentrasi 80% dengan 100% ekstrak maserasi daun tembakau terhadap *A. niger* juga memiliki signifikansi  $p > 0,05$  yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna. Sedangkan kelompok konsentrasi lainnya dan kelompok kontrol positif memiliki signifikansi kurang dari 0,05.

### Kesimpulan

Ekstrak pirolisis dan maserasi daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) dapat menghambat pertumbuhan *A. niger* secara in vitro. Namun, ekstrak pirolisis lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *A. niger* pada konsentrasi 40% dibandingkan dengan ekstrak maserasi pada konsentrasi 80%. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan konsentrasi lain yang lebih kecil untuk mengetahui efektivitas daya hambat terbaik dalam menghambat jamur *A. niger*.

### Daftar Pustaka

1. Ali, Hiba A., Elhag, W. & Ibrahim, N., 2018, Etiology of Otomycosis among Patients attending Khartoum Ear, Nose and Throat Teaching Hospital. African Journal of Medical Sciences, [online] 3(1). Diakses September 2020.
2. Anwar, Khurshid & Gohar, Muhammad Shahid 2014, Otomycosis; clinical features, predisposing factors and treatment implications. Pakistan Journal of Medical Sciences, [online] 30(3). Diakses Agustus 2021.
3. Amilia, Winda, Rusdianto, Andrew S., dan Novemi, Arma D. 2020, The Effect of Coating as Antifungi of Harumanis Mango's Post Harvest Losses. *Journal La Lifesci*, vol.01.
4. Badan Litbang Pertanian. 2017, Virginia Hibrida NTB: GL 26H - Pertanian.go.id. [online]. Diakses Juli 2021. Available at: <https://www.litbang.pertanian.go.id/varietas/218/>
5. Duan, Suzhen, Du, Yongmei, Hou, Xiaodong,

- Yan, Ning, Dong, Weijie, Mao, Xinxin & Zhang, Zhongfeng 2016, Chemical Basis of the Fungicidal Activity of Tobacco Extracts against *Valsa mali*. *Molecules*. 21(12):1743.
6. Duangsri, Piche, Juntarapun, Kantima & Satirapipathkul, Chutimon, 2012, The Tobacco Leaf Extract And Antibacterial Activity In Textile. *International Conference: Textile & Fashion*.
  7. Munfaati, PN, Ratnasari, E, dan Trimulyono, G 2015, 'Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella Dysenteriae* Secara In Vitro', *LenteraBio*, Vol. 4, no. 1, hlm. 64-71, Januari 2015,
  8. Nur, Y.H. and Salim, Z., 2014, Daya Saing Tembakau Virginia Lokal: Analisis Rantai Nilai. *Jurnal Ekonomi dan Pembangunan*, 22(1), pp.1-10.
  9. Patil, R. S., Desai, A. B. & Wagh, S. A. 2015, Comparative study of antimicrobial compounds extracted from leaves of *Nicotiana tabacum* and cigarette. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(03), pp.1511-1518.
  10. Prasetyo, M. I. W., Subekti, S. dan Mustapit, M. 2019, 'Pariwisata Tembakau Di Kabupaten Jember Dan Strategi Pengembangannya', *UNEJ e-Proceeding*, (November), pp. 592-605.
  11. Puspita, Pratiwi Eka. 2011, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tembakau Temanggung Varietas Genjah Kemloko. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
  12. Putri, R. H., Barid, I., & Kusumawardani, B. 2014, Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Stomatognatic: Jurnal Kedokteran Gigi*. Vol. 11 (2): 27-31.
  13. Rahayu, Yen Yen Sally, Araki, Tetsuya and Rosleine Dian. 2020, Factors affecting the use of herbal medicines in the universal health coverage system in Indonesia. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 260, 112974.
  14. Roy, Dijendra Nath. 2019, *Terpenoids Against Human Diseases*. Boca Raton : CRC Press, hal.198.
  15. Sholeh, M., 2012, KETERKAITAN ANTARA KONDISI IKLIM DAN PERENCANAAN TANAM TEMBAKAU VIRGINIA. Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat.
  16. Wati, Susi Maimona. 2019, "Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*". *Skripsi*. Jember: Universitas Jember,
  17. Welz, A.N., Emberger-Klein, A. & Menrad, K. 2018, Why people use herbal medicine: insights from a focus-group study in Germany. *BMC Complement Altern Med* 18, 92.
  18. Zaidi, M.I., Wattoo, F.H., Hamid, M., Wattoo, S., Tirmizi, S.A., Salman, S. 2012, Antibacterial activities of nicotine and its zinc complex, *African journal of Microbiology Research*. 6(24):5134-5137.