

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 memperlihatkan bahwa terdapat daya hambat ekstrak daun tembakau terhadap kedua bakteri uji. Daya hambat yang terbentuk berupa zona bening di sekeliling kertas cakram. Zona bening ini kemudian diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong.

IV.1.1 Deskripsi Zona Bening Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853

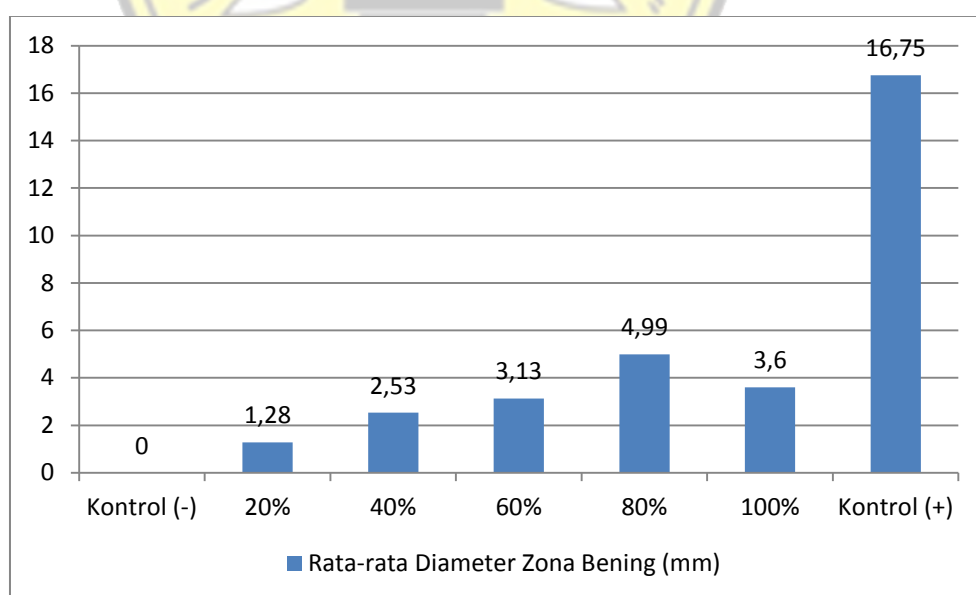
Dari hasil penelitian didapatkan adanya zona bening ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *P.aeruginosa*, dan dipaparkan dalam tabel berikut.

Tabel 4 Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening yang Dihasilkan Oleh Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *P.aeruginosa*

Zona Bening Ekstrak Daun Tembakau terhadap <i>P.aeruginosa</i> (dalam milimeter)							
Percobaan	Kontrol	Kontrol	20%	40%	60%	80%	100%
	(-)	(+)					
1	0	16,10	1,29	2,39	3,06	5,40	3,62
2	0	15,67	1,17	2,86	3,08	5,06	3,59
3	0	17,93	1,43	2,52	3,19	4,73	3,79
4	0	17,32	1,25	2,36	3,21	4,78	3,41
Jumlah	0	67,02	5,14	10,13	12,54	19,97	14,41
Rata-rata	0	16,75	1,28	2,53	3,13	4,99	3,60

Adanya zona bening yang dihasilkan menunjukkan bahwa ekstrak daun tembakau memiliki daya hambat. Daya hambat ekstrak daun tembakau terhadap terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 yang ditunjukkan oleh tabel diatas memperlihatkan bahwa kelompok kontrol negatif (akuades) tidak memiliki daya hambat, yang ditunjukkan dengan nilai rata-rata zona bening sebesar 0 mm. Zona bening mulai terbentuk pada konsentrasi ekstrak 20% dengan nilai rata-rata sebesar 1,28 mm. Pada konsentrasi ekstrak 40%, zona bening meningkat dengan nilai rata-rata sebesar 2,53 mm. Pada konsentrasi ekstrak 60%, zona bening lebih meningkat dengan nilai rata-rata sebesar 3,13 mm. Pada konsentrasi ekstrak 80%, zona bening lebih meningkat lagi dan menjadi zona bening yang terbesar dari seluruh konsentrasi ekstrak daun tembakau, dengan nilai rata-rata sebesar 4,99 mm. Pada konsentrasi ekstrak 100%, zona bening mengalami penurunan dengan nilai rata-rata sebesar 3,60 mm. Kelompok kontrol positif (siprofloksasin) menghasilkan zona bening terbesar dari seluruh kelompok perlakuan dengan nilai rata-rata sebesar 16,75 mm.

Grafik 1 Hasil Pengukuran Rata-Rata Diameter Zona Bening yang Dihasilkan Oleh Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853



Grafik diatas menunjukkan nilai rata-rata zona bening ekstrak daun tembakau terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853. Hasil penelitian ekstrak daun tembakau terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin besar diameter zona bening yang dihasilkan, namun ketika mencapai konsentrasi maksimalnya yaitu konsentrasi 100% diameter zona bening mengalami penurunan.

Kekuatan daya hambat sebagai antibakteri terbagi menjadi empat kriteria, yang terdiri dari lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat. Kriteria tersebut ditentukan berdasarkan rata-rata diameter zona bening yang dihasilkan. Zona bening berdiameter 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona bening berdiameter 6 sampai 10 mm dikategorikan sedang, zona bening berdiameter 10 sampai 20 mm dikategorikan kuat, dan zona bening berdiameter 20 mm lebih dikategorikan sangat kuat (Davis & Stout 1971, dalam Sudewi & Lolo 2016, hlm.39).

Tabel 5 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Berdasarkan Rata – rata Diameter Zona Bening Pada *P.aeruginosa*

Konsentrasi Ekstrak Daun Tembakau	Rata – rata Diameter Zona Bening Pada <i>P.aeruginosa</i> (mm)	Keterangan (Daya Antibakteri)
Kontrol (-)	0	Tidak ada
Kontrol (+)	16,75	Kuat
20%	1,28	Lemah
40%	2,53	Lemah
60%	3,13	Lemah
80%	4,99	Lemah
100%	3,60	Lemah

Dari hasil rata-rata zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak daun tembakau terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 didapatkan bahwa pada kontrol negatif (akuades) tidak memiliki kekuatan daya antibakteri. Sesuai dengan tabel 5 diatas, konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki kekuatan

daya antibakteri yang bersifat lemah. Pada kontrol positif (siprofloksasin) memiliki kekuatan daya antibakteri yang bersifat kuat.

IV.1.2 Deskripsi Zona Bening Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *E.coli* ATCC 25922

Dari hasil penelitian didapatkan adanya zona bening ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *E.coli* ATCC 25922, dan dipaparkan dalam tabel berikut.

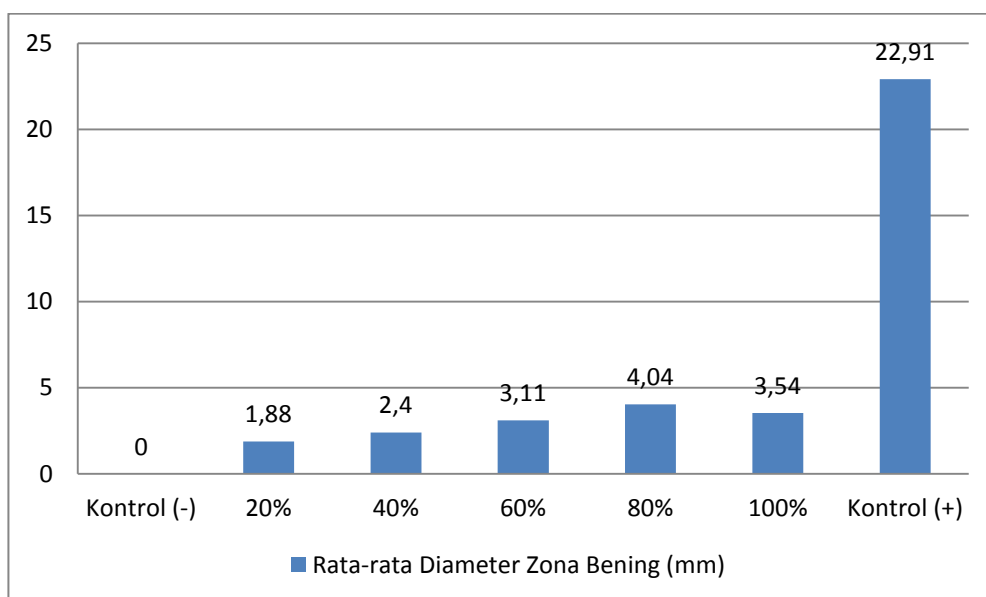
Tabel 6 Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening yang Dihasilkan Oleh Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *E.coli*

Zona Bening Ekstrak Daun Tembakau terhadap <i>E.coli</i> (dalam milimeter)							
Percobaan	Kontrol (-)	Kontrol (+)	20%	40%	60%	80%	100%
1	0	23,25	2,14	2,50	3,11	3,86	3,39
2	0	22,97	1,90	2,38	3,28	3,98	3,42
3	0	22,91	1,56	2,38	2,82	4,17	3,72
4	0	22,53	1,95	2,35	3,24	4,15	3,63
Jumlah	0	91,66	7,55	9,61	12,45	16,16	14,16
Rata-rata	0	22,91	1,88	2,40	3,11	4,04	3,54

Adanya zona bening yang dihasilkan menunjukkan bahwa ekstrak daun tembakau memiliki daya hambat terhadap *E.coli* ATCC 25922. Daya hambat ekstrak daun tembakau terhadap terhadap *E.coli* ATCC 25922 yang ditunjukkan oleh tabel diatas memperlihatkan bahwa kelompok kontrol negatif (akuades) tidak memiliki daya hambat, yang ditunjukkan dengan nilai rata-rata zona bening sebesar 0 mm. Zona bening mulai terbentuk pada konsentrasi ekstrak 20% dengan nilai rata-rata sebesar 1,88 mm. Pada konsentrasi ekstrak 40%, zona bening meningkat dengan nilai rata-rata sebesar 2,40 mm. Pada konsentrasi ekstrak 60%, zona bening lebih meningkat dengan nilai rata-rata sebesar 3,11 mm. Pada konsentrasi ekstrak 80%, zona bening lebih meningkat lagi dan menjadi zona bening yang terbesar dari seluruh konsentrasi ekstrak daun tembakau, dengan

nilai rata-rata sebesar 4,04 mm. Pada konsentrasi ekstrak 100%, zona bening mengalami penurunan dengan nilai rata-rata sebesar 3,54 mm. Kelompok kontrol positif (siprofloksasin) menghasilkan zona bening terbesar dari seluruh kelompok perlakuan dengan nilai rata-rata sebesar 22,91 mm.

Grafik 2 Hasil Pengukuran Rata-Rata Diameter Zona Bening yang Dihasilkan Oleh Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *E.coli* ATCC 25922



Grafik diatas menunjukkan nilai rata-rata zona bening ekstrak daun tembakau terhadap *E.coli* ATCC 25922. Hasil penelitian ekstrak daun tembakau terhadap *E.coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin besar diameter zona bening yang dihasilkan, namun ketika mencapai konsentrasi maksimalnya yaitu konsentrasi 100% diameter zona bening mengalami penurunan.

Kekuatan daya hambat sebagai antibakteri terbagi menjadi empat kriteria, yang terdiri dari lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat. Kriteria tersebut ditentukan berdasarkan rata-rata diameter zona bening yang dihasilkan. Zona bening berdiameter 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona bening berdiameter 6 sampai 10 mm dikategorikan sedang, zona bening berdiameter 10 sampai 20 mm

dikategorikan kuat, dan zona bening berdiameter 20 mm lebih dikategorikan sangat kuat (Davis dan Stout 1971, dalam Sudewi dan Lolo 2016, hlm.39).

Tabel 7 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Berdasarkan Rata – rata Diameter Zona Bening Pada *E.coli*

Konsentrasi Ekstrak Daun Tembakau	Rata – rata Diameter Zona Bening Pada <i>E.coli</i> (mm)	Keterangan (Daya Antibakteri)
Kontrol (-)	0	Tidak ada
Kontrol (+)	22,91	Sangat kuat
20%	1,88	Lemah
40%	2,40	Lemah
60%	3,11	Lemah
80%	4,04	Lemah
100%	3,54	Lemah

Dari hasil rata-rata zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak daun tembakau terhadap *E.coli* ATCC 25922 didapatkan bahwa pada kontrol negatif (akuades) tidak memiliki kekuatan daya antibakteri. Sesuai dengan tabel 7 diatas, pada konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki kekuatan daya antibakteri yang bersifat lemah. Pada kontrol positif (siprofloksasin) memiliki kekuatan daya antibakteri yang bersifat sangat kuat.

IV.2 Analisa Data

Penelitian ini menggunakan uji statistik *One-way ANOVA*, karena variabel pada penelitian ini termasuk variabel numerik dan lebih dari dua kelompok. Syarat yang harus dipenuhi yaitu distribusi data harus normal dan varians data harus sama.

IV.2.1 Analisa Data Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853

IV.2.1.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas data yang telah diperoleh dari hasil penelitian menggunakan *Shapiro-Wilk*.

Tabel 8 Uji Normalitas Data Zona Hambat Ekstrak Daun Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *P.aeruginosa*

Konsentrasi	Uji Saphiro-Wilk (Sig.)
20%	0,827
40%	0,217
60%	0,232
80%	0,447
100%	0,870
Kontrol (+)	0,611

Tabel diatas menunjukkan hasil statistik uji normalitas data yang telah diperoleh dari kelompok data pada *P.aeruginosa* ATCC 27853. Nilai signifikansi (p) yang dihasilkan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan data zona hambat ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 adalah berdistribusi normal.

IV.2.1.2 Uji Homogenitas Varians

Uji varians pada zona hambat ekstrak daun tembakau terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 memiliki varians data yang tidak sama karena signifikasi (p) kurang dari 0,05 maka harus dilakukan transformasi data agar varians data sama.

Tabel 9 Uji Homogenitas Varians Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *P.aeruginosa*

Data Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (<i>Nicotiana tabacum L.</i>)	Uji Homogenitas Varians (Sig.)
<i>P.aeruginosa</i>	0,000

IV.2.1.3 Uji Transformasi Data

Hasil slope dan power yang dihasilkan dari ekstrak daun tembakau terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 dipaparkan pada tabel sebagai berikut.

Tabel 10 Uji Transformasi Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *P.aeruginosa*

Nilai Slope	Nilai Power
0,926	0,074

Tabel diatas menunjukkan hasil uji transformasi data zona hambat ekstrak daun tembakau terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 dengan nilai *slope* sebesar 0,926 dan *power* sebesar 0,074 sehingga bentuk anjuran transformasi yang terbaik adalah Logaritma. Setelah membuat variabel hasil transformasi, maka selanjutnya dapat melakukan uji varians (Dahlan, 2011, hlm. 94).

IV.2.1.4 Uji Homogenitas Varians

Uji varians untuk variabel hasil transformasi zona hambat ekstrak daun tembakau terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 memiliki varians data yang sama karena signifikasi (p) lebih dari 0,05.

Tabel 11 Uji Homogenitas Varians Hasil Transformasi Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *P.aeruginosa*

Data Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (<i>Nicotiana tabacum L.</i>)	Uji Homogenitas Varians (Sig.)
<i>P.aeruginosa</i>	0,465

Oleh karena distribusi data sudah normal dan varians data sudah sama, maka selanjutnya dapat dilakukan uji *One-way ANOVA*.

IV.2.1.5 Uji *One-way ANOVA*

Tabel 12 Uji *One-way ANOVA* Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *P.aeruginosa*

F Hitung	(Sig.)
708,583	0,000

Tabel diatas menunjukkan hasil statistik uji *One-Way ANOVA* yaitu kelompok perlakuan ekstrak daun tembakau memiliki signifikansi (p) kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), maka hasil uji dapat disimpulkan menerima H_1 yang berarti ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) mempunyai pengaruh sebagai antibakteri terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 secara *in vitro*.

IV.2.1.6 Uji *Post Hoc (LSD)*

Uji ini untuk mengetahui kelompok jenis konsentrasi ekstrak daun tembakau yang memiliki perbedaan bermakna terhadap daya hambat bakteri *P.aeruginosa* ATCC 27853. Untuk membandingkan perbedaan yang signifikan antara data kelompok kontrol dengan kelompok lainnya dianalisis dengan uji *LSD*.

Tabel 13 Uji *Post Hoc* (*LSD*) Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *P.aeruginosa*

Konsentrasi Ekstrak Daun Tembakau		Perbedaan Rata-rata	(Sig.)
20%	40%	-0,29451	0,000
	60%	-0,38839	0,000
	80%	-0,58995	0,000
	100%	-0,44854	0,000
	Kontrol Positif	-1,11575	0,000
40%	20%	0,29451	0,000
	60%	-0,09387	0,000
	80%	-0,29544	0,000
	100%	-0,15403	0,000
	Kontrol Positif	-0,82124	0,000
60%	20%	0,38839	0,000
	40%	0,09387	0,000
	80%	-0,20157	0,000
	100%	-0,06016	0,007
	Kontrol Positif	-0,72736	0,000
80%	20%	0,58995	0,000
	40%	0,29544	0,000
	60%	0,20157	0,000
	100%	0,14141	0,000
	Kontrol Positif	-0,52580	0,000
100%	20%	0,44854	0,000
	40%	0,15403	0,000
	60%	0,06016	0,007
	80%	-0,14141	0,000
	Kontrol Positif	-0,66721	0,000
Kontrol Positif	20%	1,11575	0,000
	40%	0,82124	0,000
	60%	0,72736	0,000
	80%	0,52580	0,000
	100%	0,66721	0,000

Berdasarkan tabel diatas, diperoleh semua nilai signifikansi uji *LSD* kurang dari (0,05), hal ini menunjukkan bahwa pada semua kelompok konsentrasi ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) memiliki perbedaan daya hambat secara bermakna terhadap bakteri uji *P.aeruginosa* ATCC 27853.

IV.2.2 Analisa Data Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *E.coli* ATCC 25922

IV.2.2.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas data yang telah diperoleh dari hasil penelitian menggunakan *Shapiro-Wilk*.

Tabel 14 Uji Normalitas Data Zona Hambat Ekstrak Daun Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *E.coli*

Konsentrasi	Uji <i>Saphiro-Wilk</i> (Sig.)
20%	0,690
40%	0,103
60%	0,332
80%	0,411
100%	0,361
Kontrol (+)	0,824

Tabel diatas menunjukkan hasil statistik uji normalitas data yang telah diperoleh dari kelompok data pada *E.coli* ATCC 25922. Nilai signifikansi (p) yang dihasilkan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan data zona hambat ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *E.coli* ATCC 25922 adalah berdistribusi normal.

IV.2.2.2 Uji Homogenitas Varians

Uji varians pada zona hambat ekstrak daun tembakau terhadap *E.coli* ATCC 25922 memiliki varians data yang sama karena signifikasi (p) lebih dari 0,05.

Tabel 15 Uji Homogenitas Varians Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *E.coli*

Data Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (<i>Nicotiana tabacum L.</i>)	Uji Homogenitas Varians (Sig.)
<i>E.coli</i>	0,185

Oleh karena distribusi data sudah normal dan varians data sudah sama, maka selanjutnya dapat dilakukan uji *One-way ANOVA*.

IV.2.2.3 Uji *One-way ANOVA*

Tabel 16 Uji *One-way ANOVA* Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap *E.coli*

F Hitung	(Sig.)
7110,896	0,000

Tabel diatas menunjukkan hasil statistik uji *One-Way ANOVA* yaitu kelompok perlakuan ekstrak daun tembakau memiliki signifikansi (p) kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), maka hasil uji dapat disimpulkan menerima H1 yang berarti ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) mempunyai pengaruh sebagai antibakteri terhadap *E.coli* ATCC 25922 secara *in vitro*.

IV.2.2.4 Uji *Post Hoc (LSD)*

Uji ini untuk mengetahui kelompok jenis konsentrasi ekstrak daun tembakau yang memiliki perbedaan bermakna terhadap daya hambat bakteri *E.coli* ATCC 25922. Untuk membandingkan perbedaan yang signifikan antara data kelompok kontrol dengan kelompok lainnya dianalisis dengan uji *LSD*.

Tabel 17 Uji *Post Hoc* (*LSD*) Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *E.coli*

Konsentrasi Ekstrak Daun Tembakau		Perbedaan Rata-rata	(Sig.)
20%	40%	-0,51500	0,001
	60%	-1,22500	0,000
	80%	-2,15250	0,000
	100%	-1,65250	0,000
	Kontrol Positif	-21,02750	0,000
40%	20%	0,51500	0,001
	60%	-0,71000	0,000
	80%	-1,63750	0,000
	100%	-1,13750	0,000
	Kontrol Positif	-20,51250	0,000
60%	20%	1,22500	0,000
	40%	0,71000	0,000
	80%	-0,92750	0,000
	100%	-0,42750	0,004
	Kontrol Positif	-19,80250	0,000
80%	20%	2,15250	0,000
	40%	1,63750	0,000
	60%	0,92750	0,000
	100%	0,50000	0,001
	Kontrol Positif	-18,87500	0,000
100%	20%	1,65250	0,000
	40%	1,13750	0,000
	60%	0,42750	0,004
	80%	-0,50000	0,001
	Kontrol Positif	-19,37500	0,000
Kontrol Positif	20%	21,02750	0,000
	40%	20,51250	0,000
	60%	19,80250	0,000
	80%	18,87500	0,000
	100%	19,37500	0,000

Berdasarkan tabel diatas, diperoleh semua nilai signifikansi uji *LSD* kurang dari (0,05), hal ini menunjukkan bahwa pada semua kelompok konsentrasi ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) memiliki perbedaan daya hambat secara bermakna terhadap bakteri uji *E.coli* ATCC 25922.

IV.3 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap *P.aeruginosa* ATCC 27853 dan *E.coli* ATCC 25922, memperlihatkan adanya daya hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram pada percobaan dengan konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Penelitian ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali. Pada pengolahan data dengan uji *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa nilai signifikansi $p < 0,05$ yang berarti ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) mempunyai pengaruh daya hambat sebagai antibakteri terhadap masing-masing bakteri uji.

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna dari hasil perlakuan kelompok konsentrasi ekstrak daun tembakau terhadap masing-masing bakteri uji, maka selanjutnya dilakukan analisis *Post Hoc* dengan uji *LSD*. Hasil Uji *Post-Hoc (LSD)* menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki signifikansi $p < 0,05$, sehingga semua kelompok konsentrasi ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) memiliki perbedaan daya hambat secara bermakna terhadap masing-masing bakteri uji.

Pada percobaan, menunjukkan adanya kenaikan daya hambat pada setiap kenaikan konsentrasi ekstrak daun tembakau, yang terlihat dengan adanya peningkatan nilai rata-rata diameter zona bening yang terbentuk seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun tembakau. Hal tersebut disebabkan karena konsentrasi ekstrak mempengaruhi penyerapan senyawa antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diuji, maka semakin banyak zat aktif antibakteri yang terkandung didalamnya, sehingga efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri akan semakin baik dan diameter zona hambat yang dihasilkan akan semakin luas (Munfaati dkk. 2015, hlm.69).

Konsentrasi ekstrak 80% menghasilkan rata-rata diameter zona hambat yang paling besar pada masing-masing bakteri uji. Namun, ketika diuji dengan konsentrasi ekstrak 100%, nilai rata-rata zona hambat yang dihasilkan mengalami penurunan. Dari hasil tersebut, dapat diketahui bahwa konsentrasi ekstrak daun tembakau yang paling efektif dalam menghambat bakteri uji adalah konsentrasi ekstrak 80%. Pada konsentrasi ekstrak 80%, kandungan zat aktif yang tinggi dapat

terserap kedalam kertas cakram maupun media agar secara optimal dan efektif, sehingga diameter zona hambat yang dihasilkannya besar. Sedangkan zona hambat konsentrasi ekstrak 100% yang terbentuk pada masing-masing bakteri uji lebih kecil disebabkan karena konsentrasi ekstrak 100% merupakan konsentrasi yang paling maksimal, sehingga ekstrak mempunyai sifat dan konsistensi yang sangat pekat dan hampir padat. Hal itulah yang membuat proses difusi ekstrak pada kertas cakram dan media agar menjadi kurang efektif (Putra dkk. 2015, hlm.500).

Proses pembuatan variasi konsentrasi ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) menggunakan pelarut akuades yang ditambahkan ke dalam ekstrak. Menurut Prasetyo dkk. (2012, hlm.22), pelarut akuades dapat membuat senyawa yang ada dalam suatu bahan mengalami reaksi hidrolisis. Akuades juga memiliki sifat yang stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar dan tidak toksik, sehingga mendukung keamanan dalam jalannya proses penelitian.

Penelitian ini memperlihatkan bahwa ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) memiliki pengaruh sebagai antibakteri terhadap masing-masing bakteri uji dan termasuk dalam kategori lemah. Adanya aktivitas daya hambat ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap bakteri uji disebabkan karena ekstrak daun tembakau mempunyai beberapa kandungan fitokimia yang berperan sebagai antibakteri, antara lain alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid (Puspita 2011, hlm.19).

Kandungan-kandungan fitokimia dalam ekstrak daun tembakau memberikan efek antibakteri terhadap masing-masing bakteri uji dengan mekanisme yang berbeda. Bakteri *P.aeruginosa* dan *E.coli* termasuk dalam bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang berlapis, terdiri dari lipopolisakarida, lipoprotein dan peptidoglikan. Kandungan alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Terganggunya pembentukan peptidoglikan membuat lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga dapat menyebabkan kematian sel (Permatasari dkk. 2013, hlm.168). Selain itu, senyawa aromatik yang terkandung dalam alkaloid menyebabkan terbentuknya ikatan dengan DNA bakteri sehingga sintesis DNA bakteri terganggu (Ningsih dkk. 2013, hlm.211). Kandungan flavonoid pada

ekstrak daun tembakau dapat berikatan pada protein membran sel sehingga menimbulkan kerusakan membran sel. Rusaknya membran sel berakibat pada terganggunya integritas membran sel bakteri sehingga menyebabkan terganggunya pertumbuhan sel bakteri dan kematian bakteri (Putri dkk. 2014, hlm.30). Kandungan steroid dan terpenoid yang merupakan senyawa dari golongan minyak atsiri memiliki kemampuan antibakteri dengan cara menghambat kerja enzim yang terlibat dalam produksi energi dan mengubah komposisi penyusun dinding sel akibat adanya akumulasi komponen lipofilik, sehingga mengganggu pembentukan dinding sel. Di dalam minyak atsiri juga terkandung fenol. Fenol dalam kadar tinggi dapat menyebabkan denaturasi protein serta menyebabkan sel bakteri lisis (Puspita 2011, hlm.24).

Penggunaan antibiotik siprofloksasin dipilih sebagai kontrol positif karena siprofloksasin merupakan antibiotik yang sensitif terhadap *P.aeruginosa* dan *E.coli* sehingga dapat menimbulkan daya hambat terhadap bakteri uji (Putri dkk. 2014, hlm.331; Kepel dkk. 2015, hlm.45). Berdasarkan kriteria CLSI (2015), zona hambat siprofloksasin terhadap *P.aeruginosa* termasuk kategori *intermediate* (16-20 mm) dan termasuk kategori *susceptible* terhadap *E.coli* (≥ 21 mm). Antibiotik ini berspektrum luas, dengan mekanisme kerjanya menghambat DNA girase (topoisomerase II) dan topoisomerase IV yang terdapat dalam bakteri.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Puspita (2011, hlm. 23), dengan konsentrasi ekstrak daun tembakau 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yang diuji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitiannya yaitu bahwa ekstrak daun tembakau mempunyai daya antibakteri. Pada penelitian tersebut, daya hambat ekstrak daun tembakau yang bekerja pada konsentrasi ekstrak 20% tergolong lemah dengan nilai zona hambat 4 mm untuk kedua bakteri, pada konsentrasi ekstrak 40% dan 60% tergolong sedang dengan nilai zona hambat 6 mm untuk *S.aureus* dan 7 mm untuk *E.coli*, serta pada konsentrasi ekstrak 80% dan 100% juga tergolong sedang dengan nilai zona hambat 7 mm untuk *S.aureus* dan 8 mm untuk *E.coli*. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Sharma dkk. (2016, hlm. 1166), menunjukkan bahwa ekstrak batang *Nicotiana tabacum* mempunyai daya antibakteri, terutama karena kandungan flavonoid dan antioksidan alami didalamnya yang dapat memberikan

manfaat pengobatan. Dan penelitian lainnya yang dilakukan oleh Putri dkk. (2014, hlm.28), yang menggunakan metode cakram dengan konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans*, juga menunjukkan bahwa ekstrak daun tembakau memiliki daya sebagai antibakteri dan antijamur.

Dari hasil yang telah didapatkan, penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) ini menghasilkan daya hambat bakteri yang kurang baik dibandingkan dengan penelitian sebelumnya walaupun sama-sama menggunakan ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*), seperti yang telah dilakukan oleh Puspita (2011) dan Putri dkk. (2014). Perbedaan dalam metode ekstraksi yang digunakan dapat menyebabkan hasil uji yang diperoleh menjadi berbeda. Pada metode ekstraksi refluks, proses ekstraksinya menggunakan pemanasan hingga mencapai suhu titik didih pelarut. Proses pemanasan dengan suhu yang tinggi dapat menyebabkan adanya kemungkinan kerusakan komponen yang ada didalam bahan. Selain itu, proses pelarutan atau pengocokkan ekstrak juga mempunyai peran yang penting, sebab pelarutan yang baik dapat memudahkan pelarut dalam melarutkan senyawa yang terkandung dalam bahan. Sehingga, proses pelarutan ekstrak yang kurang efektif dapat membuat senyawa dalam bahan menjadi tidak larut dengan optimal (Pratiwi 2010, hlm.7).