

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI
DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

**ANTIBACTERIA ACTIVITY TEST OF *Ocimum basilicum* L.
TOWARD *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli***

Maryati*, Ratna Sorayya Fauzia*, Triastuti Rahayu**

* Fakultas Farmasi

** Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A. Yani, Tromol Pos I, Pabelan, Kartasura, Surakarta 57102

ABSTRAK

Penyakit infeksi masih merupakan masalah utama kesehatan di Indonesia.. Penelitian untuk mencari antibakteri baru perlu terus dilakukan. Minyak atsiri merupakan salah satu metabolit sekunder tanaman yang banyak dilaporkan memiliki aktifitas antibakteri. Tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) merupakan tanaman yang mengandung minyak atsiri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Minyak atsiri diisolasi dengan penyulingan metode uap dan air. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dihisi padat terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*. Konsentrasi minyak atsiri yang digunakan adalah 2% v/v, 1% v/v, 0,5% v/v, 0,25% v/v, 0,125% v/v, dan 0,0625% v/v dengan menggunakan suspending agent PEG 400 2,5% v/v. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan nilai KBM berturut-turut 0,5% v/v dan 0,25% v/v.

Kata kunci: *Ocimum basilicum* L., minyak atsiri, antibakteri, *S. aureus*, *E. coli*

ABSTRACT

Infectious diseases are still the main health problem in Indonesia. Research to find new antibacterial agents are needed. Essential oil is secunder metabolite

from plant that reported had antibacterial activity. The aim of this research was to examine the antibacterial activity of essential oil from *Ocimum basilicum* L. against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Essential oil obtained by water and steam distillation. Antibacterial activity test was conducted by the solid dilution method against *S. aureus* and *E. coli*. Essential oil were prepared at the concentration of 2% v/v, 1% v/v, 0.5% v/v, 0.25% v/v, 0.125% v/v, and 0.0625% v/v using PEG 400 2.5% as suspending agent. The result showed that essential oil of *Ocimum basilicum* L had MIC against *S. aureus* and *E. coli*, 0,5% v/v and 0,25 % v/v, respectively.

Keywords: *Ocimum basilicum* L, essential oil, antibacterial, *S. aureus*, *E. coli*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih merupakan masalah utama kesehatan di Indonesia. Pengobatan infeksi dengan kombinasi berbagai antibiotik yang semula dipercaya sebagai obat yang mampu memusnahkan bakteri penyebab infeksi ternyata juga menimbulkan permasalahan baru yaitu munculnya bakteri yang multiresisten. Bakteri ini mudah ditularkan dari satu pasien ke pasien lain terutama di rumah sakit yang dikenal nosokomial *infection*. Keadaan tersebut mendorong para peneliti mencari obat baru yang lebih efektif untuk mengobati infeksi.

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen yang paling banyak menyerang manusia. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang hidup sebagai saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran usus, sedangkan *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang banyak ditemukan dalam usus besar manusia sebagai flora normal (Pelezar dkk., 1998).

Tanaman kemangi mengandung minyak atsiri, tetapi sampai sekarang belum dibudidayakan untuk diolah minyaknya. Di Indonesia, tanaman kemangi dimanfaatkan untuk sayur atau lalap sebagai pemacu selera makan. Tanaman kemangi dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, daun kemangi digunakan untuk mengobati demam, peluruh asi dan rasa mual (Pitojo, 1996).

Aktivitas biologi yang sudah diteliti dari tanaman kemangi antara lain sebagai antipiretik (menurunkan demam), karminatif, peluruh haid dan merangsang kelenjar air susu. Minyak atsiri daun kemangi tersusun atas senyawa hidrokarbon, alkohol, ester, phenol (eugenol 1-19 %, iso-eugenol), eter phenolat (metil clavicol 3-31%, metil eugenol 1-9%), oksida dan keton (Gunawan, 1998).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi, serta mengukur konsentrasi bunuh minimal (KBM) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan tanaman berkhasiat obat pada umumnya dan pemanfaatan minyak atsiri tanaman kemangi pada khususnya.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi yang diambil dari kebun di daerah pabelan Kartasura, akuades, aseton farmasetis, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diperoleh dari biakan murni yang didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, akuades steril, PEG 400, media BHI ds dan BHI ss, media *Mueller Hinton*, media *Mac Conkey* dan media *Manitol Salt Agar*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat untuk destilasi minyak atsiri, alat pengukur berat jenis (piknometer, neraca), alat pengukur indeks bias (Hand refraktometer type N-3), alat untuk uji aktifitas antibakteri (mikropipet, petri steril, autoklaf, LAF).

Penelitian ini diawali dengan determinasi tanaman, untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar tanaman kemangi. Kemudian dilakukan isolasi minyak atsiri dengan metode uap dan air. Minyak atsiri yang diperoleh kemudian ditetapkan sifat fisiknya, yaitu bobot jenis dan indeks bias. Penetapan bobot jenis dilakukan dengan alat piknometer, sedangkan indeks bias ditetapkan dengan Hand refraktometer type N-3. Penetapan sifat fisik minyak atsiri ini dimaksudkan untuk mengetahui kualitas minyak atsiri.

Langkah selanjutnya adalah uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Pertama dibuat 6 seri konsentrasi minyak atsiri dari larutan stok (2% v/v) yaitu konsentrasi 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625% dengan volume tiap tabung 0,5ml. Kedua, dilakukan penyiapan bakteri uji dengan cara koloni bakteri diambil dari media darah sebanyak satu ose dan disuspensikan ke dalam 2 ml BHI cair, kemudian diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi, sebanyak 200µl disuspensikan ke dalam 2 ml media BHI cair, kemudian suspensi tersebut diinkubasi selama 4-8 jam pada 37°C. Ketiga, inokulasi bakteri dengan cara diambil 100µl dari hasil suspensi bakteri media BHI 2 ml yang telah diinkubasi 4-8 jam, kemudian ditambahkan dengan 2 ml akuades steril dan dibandingkan dengan standar Brown 10 yaitu kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi kuman 10⁸CFU (*Colony Forming Unit*), jika belum sama dilakukan penambahan atau pengenceran

suspensi bakteri. 100 μ l suspensi bakteri tersebut diencerkan dengan media BHI ds sampai dengan 10ml, kemudian dihomogenkan dengan dikocok. Pada uji ini dibuat 3 macam kontrol, yaitu kontrol I/kontrol positif (media MH dan 50 μ l suspensi bakteri), kontrol II /kontrol negatif (Media MH + sisa pengenceran minyak atsiri), dan kontrol III/kontrol negatif).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil determinasi dengan acuan buku “Flora” karangan Van Stenis (2003) diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan adalah genus *Ocimum*, dengan keterangan spesies adalah *Ocimum basilicum* L.

Isolasi minyak atsiri daun kemangi dilakukan dengan cara penyulingan menggunakan metode uap dan air. Dari hasil penyulingan daun kemangi dengan berat basah 1 kg diperoleh minyak atsiri sebanyak 2 ml berwarna kuning jernih dan berbau menyerupai tanaman asalnya.

Hasil penentuan bobot jenis minyak atsiri pada suhu 15°C dengan lima kali replikasi adalah $(0,925 \pm 7,36 \cdot 10^{-6})$. Data bobot jenis ini digunakan sebagai pustaka untuk kelengkapan data penelitian yang telah dilakukan dan dibandingkan dengan keterangan yang ada dalam referensi yaitu menyebutkan harga bobot jenis minyak atsiri kemangi 15°/15° C adalah 0,9246-0,9303 (Anonim, 1979). Harga bobot jenis dalam percobaan masuk dalam range tersebut, maka dapat dikatakan minyak atsiri daun kemangi tersebut berkualitas baik.

Hasil penentuan indeks bias dari minyak atsiri daun kemangi pada suhu 27°C untuk tiga kali pengulangan adalah $1,477 \pm 4,078 \cdot 10^{-5}$. Hasil pengujian ini dibandingkan dengan keterangan yang ada dalam pustaka, yang menyebutkan bahwa minyak atsiri daun kemangi pada suhu 20°C adalah 1,4925-1,4949 (Anonim, 1979).

Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap dan tidak dapat bercampur dengan air. Untuk menaikkan kelarutannya diperlukan emulgator yang bersifat inert. Dua cairan yang tidak dapat campur satu sama lain umumnya menunjukkan karakter hidrofil dan lipofil. Emulgator memiliki dua sisi dengan sifat yang berlainan yaitu hidrofil dan lipofil sehingga dapat menjadi perantara dalam pencampuran cairan dengan karakter yang berbeda (Voight, 1984). Penggunaan emulgator ini diharapkan tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Uji kelarutan ini dilakukan untuk menentukan emulgator apa yang akan digunakan untuk melarutkan minyak atsiri. Uji dilakukan terhadap PEG 400, Tween 80 dan Spaan dengan konsentrasi masing-masing 2,5% v/v. Hasil uji kelarutan minyak atsiri daun kemangi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengujian Kelarutan Minyak Atsiri Daun Kemangi

Nama Pelarut	Konsentrasi Minyak Atsiri Kemangi % v/v	Kelarutan
Akuades	0,5%	Tidak larut
PEG 400, 2,5%	0,5%	Larut (teremulsi)
TWEEN 80, 2,5%	0,5%	Kurang larut
SPAAN 2,5%	0,5%	Kurang larut

Dari hasil uji kelarutan di atas dapat dilihat bahwa masing-masing emulgator memiliki kemampuan melarutkan yang berbeda-beda. Dengan menggunakan pelarut PEG 2,5% minyak atsiri daun kemangi dapat tercampur dengan baik membentuk sistem emulsi yang baik dan jernih, karena itu dalam penelitian ini emulgator yang dipilih adalah PEG 2,5%.

Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi terhadap *S.aureus* (gram positif) dan *E. coli* (gram negatif) dilakukan dengan menggunakan metode dilusi padat. Metode dilusi padat dipilih karena pada metode ini, ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri dapat teramati dengan jelas, sehingga dapat memudahkan dalam penentuan harga konsentrasi bunuh minimal (KBM) terhadap bakteri uji. Selain itu dalam metode dilusi padat, larutan obat terdistribusi merata sehingga kontak dengan bakteri lebih efektif. Prinsip dari metode dilusi padat adalah sejumlah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa seri konsentrasi. Tiap konsentrasi dicampur ke dalam media dan disterilkan, lalu ditanami kuman dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai diperiksa sampai konsentrasi beberapa obat dapat membunuh kuman. Tabung-tabung seri konsentrasi minyak atsiri daun kemangi dibandingkan dengan kontrol positif (+), kontrol negatif (-) dan kontrol media. Kontrol negatif berupa sisa pengenceran minyak atsiri tanpa suspensi bakteri, kontrol ini digunakan untuk memastikan tidak adanya kontaminasi oleh bakteri, jamur ataupun adanya kerusakan dari minyak yang dapat mempengaruhi hasil percobaan. Kontrol media digunakan untuk memastikan sterilitas media. Hasil uji aktivitas minyak atsiri daun kemangi terhadap *S. aureus* dan *E. coli* tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Minyak Atsiri Daun Kemangi Terhadap *S. aureus* dan *E. coli* Setelah Inkubasi 24 Jam Pada Suhu 37°C

Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Kemangi (% v/v)	<i>S. aureus</i>			<i>E. coli</i>		
	1	2	3	1	2	3
2 %	-	-	-	-	-	-
1 %	-	-	-	-	-	-
0,5 %	-	-	-	-	-	-
0,25%	+	+	+	-	-	-
0,125%	+	+	+	+	+	+
KONTROL (+)	+	+	+	+	+	+
KONTROL (-)	-	-	-	-	-	-
KONTROL MEDIA	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

- Tanda + menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri
- Tanda - menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri

Dari data uji aktivitas antibakteri, nilai Konsentrasi Bunuh Minimal minyak atsiri daun kemangi terhadap *S. aureus* adalah 0,5%, sedangkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimal terhadap *E. coli* adalah sebesar 0,25%. Hasil penelitian ini menunjukkan KBM dari *E. coli* lebih kecil dibanding harga KBM *S. aureus*. Perbedaan nilai KBM antara bakteri Gram (+) dan Gram (-) ini mungkin disebabkan oleh perbedaan komposisi kimiawi dinding sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri. Pada bakteri gram positif, jala mureinnya merupakan 30-70% dari massa kering dinding sel (setebal 40 lapis). Pada *S. aureus* rantai samping transpeptida dari asam muramat saling dihubungkan dengan rantairantai interpeptida. Konsentrasi proteinnya rendah dan mengandung asam teikhoat berupa rantai terdiri dari 8-50 molekul gliserol yang membentuk senyawa ester melalui jembatan fosfat. Sedangkan pada bakteri gram negatif jala mureinnya berlapis tunggal dan untuk *E. coli*, konsentrasinya hanya kurang dari 10% massa kering dinding sel. Dinding sel dari bakteri gram negatif terdiri dari lapisan peptidoglikan, lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida (Pelezar, 1988).

Pada lingkungan dengan tekanan osmotik yang tinggi dapat menyebabkan pecahnya sel apabila tidak ada dinding sel yang memiliki kekuatan untuk menahan tekanan yang tinggi. Pada bakteri gram positif terdapat 40 lapisan peptidoglikan yang merupakan 90% dari dinding sel, sedangkan pada bakteri gram negatif hanya ada satu lapisan yang merupakan 5-20% dari bahan dari dinding sel (Pelezar, 1998)

Dari harga KBM yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat dikatakan bahwa minyak atsiri daun kemangi lebih poten terhadap *E. coli* karena diperlukan konsentrasi yang lebih kecil daripada konsentrasi untuk membunuh *S. aureus*. Mekanisme antibakteri dari komponen minyak atsiri daun kemangi belum diketahui secara pasti. Minyak atsiri daun kemangi mengandung eugenol yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel. Mekanisme antibakteri kemungkinan karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi. Hal ini mengakibatkan hilangnya kation dan makromolekul dari sel sehingga pertumbuhan sel akan terganggu atau mati. Pada konsentrasi rendah senyawa fenol akan menyebabkan denaturasi protein dan pada konsentrasi tinggi akan menyebabkan koagulasi protein sehingga sel akan mati (Siswandono, 1995). Minyak atsiri daun kemangi lebih poten terhadap bakteri gram negatif dibanding pada bakteri gram positif. Hal ini berkaitan dengan permeabilitas dinding sel bakteri yang dipengaruhi oleh tebal tipisnya lapisan peptidoglikan dalam dinding sel. Bakteri gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, terdiri dari 1-2 lapisan dan susunan dinding selnya tidak kompak sehingga memiliki permeabilitas yang cukup tinggi. Bakteri gram positif mempunyai susunan dinding sel yang kompak dengan lapisan peptidoglikan sebanyak 30 lapis sehingga permeabilitasnya rendah. Dengan permeabilitas yang rendah, maka zat aktif dari minyak atsiri akan mengalami kesulitan untuk menembus membran sel bakteri gram positif sehingga efek antibakterinya kurang optimal.

Bakteri gram negatif memiliki konsentrasi lipid yang tinggi di dalam dinding selnya, dan zat lipid ini akan larut dalam senyawa alkohol sehingga dengan adanya minyak atsiri daun kemangi yang mengandung eugenol (turunan fenol) akan merusak dinding sel bakteri dan menembus ke dalam sel sehingga sel akan mengalami kerusakan. Pada bakteri gram positif, dengan adanya senyawa fenolik maka dinding sel akan mengalami denaturasi protein. Protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil sehingga hanya sedikit dari senyawa eugenol yang mampu menembus dinding sel. Mekanisme inilah yang mengakibatkan minyak atsiri daun kemangi lebih poten terhadap bakteri gram negatif dibanding pada bakteri gram positif.

Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa minyak atsiri daun kemangi menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Hasil penelitian ini membuka kesempatan untuk menemukan obat antibakteri yang baru. Obat baru dapat dibuat dengan modifikasi secara kimia zat aktif yang terdapat dalam minyak atsiri daun kemangi, dengan mensubstitusi beberapa posisi antibiotik (Siswandono, 1995). Penemuan obat baru tersebut memiliki tujuan positif, yaitu meningkatkan kemanfaat tanaman yang banyak terdapat di sekitar kita yang pada awalnya pemakaiannya hanya sebagai sayuran menjadi tanaman obat yang memiliki khasiat sebagai antibakteri. Hal ini akan memberikan keuntungan bagi masyarakat dan dunia kesehatan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Minyak atsiri daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S aureus* dan *E coli* dengan Konsentrasi Bunuh Minimal 0,5% v/v dan 0,25% v/v.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui senyawa aktif yang spesifik dalam minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang minyak atsiri daun kemangi dalam hubungannya terhadap aktivitas antibakteri yang resisten terhadap antibiotik

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia*, edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Anonim. 1993. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.
- Pelezar, J.R., E.C.S and Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Hadioetomo, dkk., jilid II, edisi ke-I. Jakarta: UI Press.
- Pitojo, Setijo. 1996. *Kemangi dan Selasih*. Ungaran: Trubus Agriwidya.
- Siswandono, S. 1995. *Prinsip-Prinsip Rancangan Obat*. Surabaya: Airlangga University.

Van Stenis, Dr.C.G.G.J. 2003. *Flora*. Jakarta: Pradnya Paramita.

Voight, R. 1984. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, edisi V, Diterjemahkan oleh Soendari Noerono. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.