

Efek Antimikroba Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* In Vitro

Asniyah

Email: kedokteran@ums.ac.id

Abstract

Black cumin (*Nigella sativa*) oil contains substances: thymoquinone, dithymoquinone, thymohydroquinone, thymol, and tannin which are considered can inhibit the growth of bacteria, fungi, and parasites, so has an antimicrobial effect. This research is aimed to know the antimicrobial effect of black cumin oil in inhibiting *Escherichia coli*'s growth. This is a laboratoric experimental research using non random consecutive sampling, with local isolate *Escherichia coli* from Microbiology Laboratory of RSUD Moewardi Surakarta as the subject of the research. *Escherichia coli* aged 24 hours on a nutrient agar and had standardized with Mc Farland 0,5, spread with sterile rib cotton over Mueller-Hinton gell. An empty filter paper disc as a negative control, 25 µg cotrimoxazol antibiotic disc as a positive control, and a filter paper disc filled with black cumin oil, are placed on the Mueller-Hinton gell plate. The plate is incubated for 1 x 24 hours, then the inhibiting zones is measured. The attempted data were analyzed with Kruskal-Wallis test. Result of the research shows that in *Escherichia coli* was formed an inhibiting zone. Kruskal-Wallis analysis shows a significant difference ($p < 0,05$) between positive control (cotrimoxazol 25 µg) with black cumin oil 50% ($8,80 \pm 0,75$ mm), 75% ($10,05 \pm 1,14$ mm), and 100% ($12,05 \pm 0,83$ mm) in concentration. Whereas black cumin oil 25% ($0,00 \pm 0,00$ mm) in concentration and negative control ($0,00 \pm 0,00$ mm) don't show a significant difference ($p > 0,05$). The conclusion of the research is black cumin (*Nigella sativa*) oil has an antimicrobial effect to *Escherichia coli*'s growth.

Key words: black cumin, *Nigella sativa*, antimicrobial effect, *Escherichia coli*

Pendahuluan

Jintan hitam atau bahasa ilmiahnya *Nigella sativa* telah digunakan di banyak negara Timur Tengah untuk pengobatan alami selama lebih dari 2000 tahun (Arifiyah, 2007). Tanaman ini telah dibuktikan secara empiris maupun secara medis oleh para peneliti Timur Tengah, Afrika, Eropa, bahkan Amerika Serikat (Sufrida & Edi, 2006).

Berdasarkan penelitian, jintan hitam bermanfaat sebagai antioksidan, antikanker, antikolesterol, antihistamin, analgesik, antibiotik, imunomodulator, dan sebagainya (Rhandawa & Al-Ghamdi, 2002). Para ilmuwan di Eropa baru-baru ini menyatakan bahwa jintan hitam (The Black Seed) bekerja sebagai antimikroba dan antimikotik (Hendrik, 2007).

Salah satu kandungan jintan hitam adalah minyak volatil. Komponen utama minyak volatil, adalah timokuinon, timohidrokuinon, ditimokuinon, timol, dan tannin terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi, meskipun mekanisme aksi antimikroba dari senyawa-senyawa ini belum jelas (Mashhadian & Rakhshandeh, 2005; Al-Jabre et al., 2003).

Penyakit infeksi masih merupakan masalah kesehatan utama, meskipun akhir-akhir ini ada kecenderungan peningkatan pada penyakit degeneratif dan metabolik. Untuk

penanggulangan penyakit infeksi, pada saat ini telah banyak digunakan berbagai jenis antibiotik, baik dari golongan penisilin, makrolid, sefalosporin, kuinolon, dan lain-lain. Hal ini merupakan suatu keuntungan bahwa kebanyakan antibiotik relatif nontoksik. Namun, semuanya memiliki efek samping yang mungkin menyulitkan atau bahkan mengancam jiwa (Barieere & Jacobs, 1998).

Resistensi antimikroba merupakan suatu masalah besar yang berkembang di seluruh dunia. Resistensi bakteri yang terjadi secara cepat ini menimbulkan kekhawatiran munculnya *multidrug resistant* yang pada gilirannya akan semakin mempersulit proses terapi penderita penyakit infeksi (Iwan, 2005).

Salah satu bakteri penyebab infeksi adalah *Escherichia coli*. Banyak antimikroba yang efektif untuk *Escherichia coli*, namun adanya resistensi antimikroba menyebabkan *Escherichia coli* menjadi salah satu bakteri yang sulit dibasmi.

Pada tahun 1992, para peneliti di Departemen Farmasi University of Dhaka, Bangladesh, memimpin sebuah studi aktivitas antimikroba minyak volatil jintan hitam dengan lima macam antibiotik: ampicilin, tetrasiklin, kotrimoksazol, gentamisin, dan asam nalidiksat. Minyak jintan hitam terbukti paling efektif melawan bakteri,

termasuk bakteri yang dikenal sangat kuat daya tahannya terhadap obat-obatan, seperti *Vibrio cholerae* dan *Shigella sp* (Randhawa & Al-Ghamdi, 2002). Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Tumari dan Boimin (2006) dari Universitas Brawijaya membuktikan bahwa ekstrak jintan hitam efektif menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Melihat khasiat yang luar biasa dari jintan hitam ini, tidak heran jika sekarang ini jintan hitam menjadi fenomena dalam pengobatan alternatif di Indonesia.

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian-penelitian sebelumnya. Berdasarkan bukti-bukti ilmiah di atas, peneliti mencoba melakukan penelitian efektivitas antimikroba minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli in vitro*, yang mana di Indonesia bukti penelitian mengenai masalah ini masih belum jelas. Selanjutnya, penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dalam bidang fitofarmaka mengenai efek antimikroba minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli in vitro*. Selain itu diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan masyarakat tentang manfaat jintan hitam (*Nigella sativa*), serta menghimbau masyarakat untuk meningkatkan konsumsi minyak jintan hitam sebagai obat tradisional (*herbal medicine*).

Material dan Desain Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorik menggunakan rancangan *post test only control group design* dengan pendekatan belah lintang. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *non random consecutive sampling*.

1. Minyak jintan hitam (*Nigella sativa*)

Minyak jintan hitam yang digunakan adalah minyak jintan hitam asal Syiria dengan merk dagang G. Minyak jintan hitam diperoleh melalui proses destilasi uap cair. Pada prosesnya, biji jintan hitam dimasukkan ke dalam tungku perolis (terbuat dari *stainless steel*) yang ditutup rapat sehingga tidak ada udara yang keluar, kemudian dipanaskan dengan menggunakan kompor bertekanan tinggi. Kira-kira setengah jam kemudian, dari dalam tungku tersebut akan keluar asap yang dialirkan lewat suling pipa. Asap tersebut disalurkan dalam suling pipa kemudian masuk ke kumparan. Dalam kumparan tersebut, disediakan tungku kedua dalam bentuk drum yang sudah diisi air. Uap asap yang mengalir tersebut mendingin dan menjadi cair, lalu

disalurkan ke dalam tungku ketiga. Karena uap cair ini masih keruh, maka uap cair ini diuapkan lagi. Setelah melalui proses dua kali destilasi, uap cair itu akan menjadi jernih.

Konsentrasi minyak jintan hitam dibuat dengan cara mengencerkan minyak jintan hitam dengan minyak kelapa hingga diperoleh konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

2. *Escherichia Coli*

Bakteri *Escherichia coli* yang digunakan adalah isolat lokal yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi RSUD Moewardi Surakarta. Sampel yang digunakan sebanyak 10 sampel.

3. Teknik Inokulasi

Bakteri uji diinokulasikan pada nutrisi agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Disiapkan 2 ml NaCl fisiologis steril dalam tabung reaksi. Beberapa oshe bakteri diambil dari isolat bakteri. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi NaCl fisiologis steril, dikocok sampai homogen. Kemudian bandingkan dengan suspensi 0,5 Mc Farland. Bakteri diambil dengan kapas lidi steril, lalu diletakkan pada tepi tabung reaksi, kemudian kapas lidi steril tersebut diputar agar bakteri yang akan dioleskan tidak terlalu banyak. Setelah itu dioleskan pada agar Mueller Hinton dan diratakan.

4. Pelaksanaan uji antibakteri

Media agar Mueller Hinton yang telah dioleskan *Escherichia coli* dibiarkan dahulu lima menit supaya mengering. Disk kertas saring yang telah ditetesi sampel uji diletakkan pada media perbenihan. Disk kertas saring ditekan lembut dengan menggunakan pinset pada permukaan lempengan sehingga terdapat kontak yang baik antara disk dan lempengan agar. Dalam media tersebut juga diletakkan disk antibiotik kotrimoksazol 25 µg pada biakan bakteri *Escherichia coli* sebagai kontrol positif dan disk kertas saring kosong sebagai kontrol negatif. Jarak diatur sedemikian rupa sehingga satu disk dengan disk lainnya berjauhan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian senyawa antimikroba dilakukan dengan pengamatan yang dilakukan setiap 24 jam. Zona hambatan yang terbentuk diukur dengan penggaris dalam satuan milimeter (mm).

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis menggunakan program komputer SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) 15.00 for Windows Release. Uji Kruskal-Wallis digunakan

untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan rata-rata hitung antar kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui pasangan kelompok sampel yang saling berbeda nyata (signifikan) dan pasangan kelompok sampel yang tidak saling berbeda nyata (tidak signifikan).

Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian efek antimikroba minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap

pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian dilakukan dengan minyak jintan hitam konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Disk kotrimoksazol 25 µg sebagai kontrol positif dan disk kertas saring kosong sebagai kontrol negatif.

Minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 100%, 75%, dan 50%, sementara pada konsentrasi 25% tidak mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

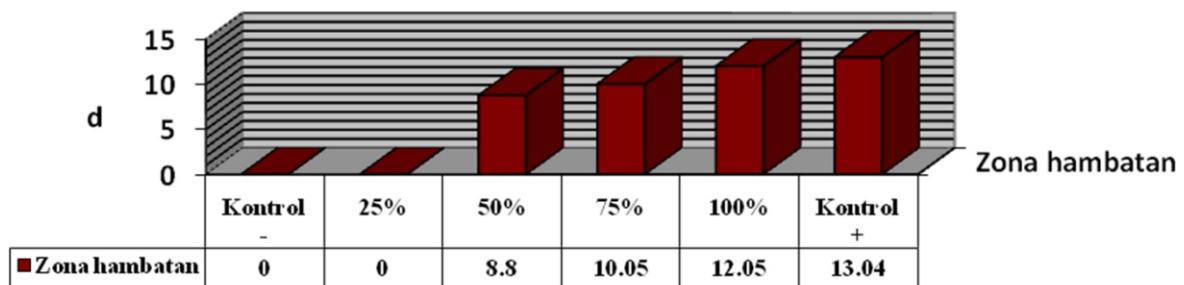
Tabel 1. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatan pertumbuhan

Escherichia coli 1 x 24 jam setelah perlakuan
Zona Hambatan Dalam Berbagai Konsentrasi (mm)

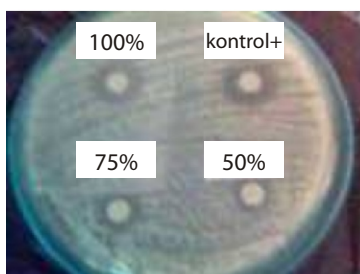
Kontrol-	25%	50%	75%	100%	Kontrol+
0,00±0,00	0,00±0,00	8,80±0,75	10,05±1,14	12,05±0,83	13,04±0,88

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada grafik berikut:

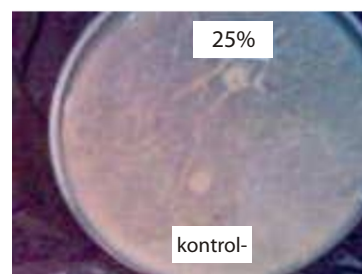
Gambar 1. Grafik Rata-rata Diameter Zona Hambatan Kuman *Escherichia coli* Masing-masing Kelompok Perlakuan



Gambar 2. Hasil Uji Sensitivitas Disk Kotrimoksazol 25 µg, dan Disk Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) 100%, 75%, dan 50% terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* In Vitro.



Gambar 3. Hasil Uji Sensitivitas Disk Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) 25% dan Disk Kertas Saring Kosong terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* In Vitro.



Pembahasan

Pada tabel 1 dapat dilihat rerata diameter zona hambatan pertumbuhan pada tiap konsentrasi perlakuan. Rerata diameter zona hambatan yang terbentuk oleh kontrol negatif sebesar $0,00 \pm 0,00$ mm, oleh konsentrasi minyak jintan hitam 25% sebesar $0,00 \pm 0,00$ mm, konsentrasi 50% sebesar $8,8 \pm 0,75$ mm, konsentrasi 75% sebesar $10,05 \pm 1,14$ mm, konsentrasi 100% sebesar $12,05 \pm 0,83$ mm, dan oleh kontrol positif sebesar $13,4 \pm 0,88$ mm. Hal tersebut sesuai dengan hipotesis awal bahwa ada efek hambatan pada pemberian minyak jintan hitam terhadap pertumbuhan *Escherichia coli in vitro*. Gambar 1 juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak jintan hitam maka diameter zona hambatan yang terbentuk juga semakin besar. Diameter zona hambatan yang meningkat dengan meningkatnya konsentrasi minyak jintan hitam menunjukkan adanya hubungan dosis-respons (*dose-responserelationship*).

Dari 10 sampel yang dikerjakan, pada konsentrasi 25% dan kontrol negatif tidak terbentuk zona hambatan pertumbuhan, sementara pada konsentrasi 50%, 75%, 100%, dan kontrol positif terbentuk zona hambatan yang bermakna secara statistik. Zona hambatan pertumbuhan terbesar terbentuk pada kontrol positif, yaitu sebesar $13,04 \pm 0,88$ mm (Gambar 1 dan 2).

Dengan demikian dapat diambil kesimpulan bahwa minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat menghambat pertumbuhan kuman *Escherichia coli* pada konsentrasi minyak jintan hitam 50%, 75%, dan 100%, sementara pada konsentrasi 25% tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis dan didapatkan perbedaan yang bermakna antar keenam kelompok perlakuan. Oleh karena itu dilanjutkan dengan *post hoc test* menggunakan uji Mann-Whitney.

Dari hasil *post hoc test* antara kontrol positif disk kotrimoksazol 25 µg dengan minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) konsentrasi 50%, 75%, dan 100% didapatkan perbedaan yang bermakna. Artinya rata-rata diameter zona hambat minyak jintan hitam konsentrasi 100%, 75%, dan 50% tidak sebanding dengan daya kontrol positif.

Sedangkan hasil *post hoc test* antara minyak jintan hitam konsentrasi 25% dengan kontrol negatif menunjukkan tidak ada perbedaan yang

bermakna. Artinya rata-rata diameter zona hambat minyak jintan hitam konsentrasi 25% sebanding dengan daya kontrol negatif.

Kemampuan minyak jintan hitam dalam menghambat pertumbuhan kuman *Escherichia coli* kemungkinan disebabkan karena zat kimia yang terkandung di dalamnya. Timokuinon, ditimokuinon, timohidrokuinon, timol, dan tanin adalah zat kimia utama pada minyak jintan hitam yang berfungsi sebagai antimikroba. Timokuinon diduga dapat membentuk kompleks yang irreversibel dengan asam amino nukleofilik pada protein bakteri, sehingga menyebabkan inaktivasi protein (Stern et al, 2000). Sementara tanin bekerja dengan mengadakan kompleks hidrofobik dengan protein, menginaktivasi adhesin, enzim, dan protein transport dinding sel, sehingga mengganggu pertumbuhan mikroorganisme (Hashem & El-Kiey, 2002).

Penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Toama dkk (2004) dari Cairo University dan Agarwal R dkk (2006) dari Aligarh Muslim University yang membuktikan bahwa *Escherichia coli* dapat dihambat pertumbuhannya oleh minyak jintan hitam. Sementara Morsi (2000) dari Cairo University melaporkan bahwa bakteri *Staphylococcus sp*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Bacillus subtilis* sensitif terhadap minyak jintan hitam, namun *Escherichia coli* insensitif. Perbedaan hasil penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan minyak jintan hitam yang digunakan sebagai sampel, perbedaan metode uji sensitivitas, atau teknik inokulasi bakteri. Penyebab perbedaan yang paling mungkin adalah bahwa bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana dibanding gram negatif, yakni hanya terdiri dari peptidoglikan dan asam teikhoat. Sehingga bakteri gram positif lebih mudah dihambat pertumbuhannya oleh antimikroba.

Dari gambar 1 terlihat bahwa konsentrasi 25% minyak jintan hitam tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, sebagaimana halnya efek kontrol negatif. Sementara itu, efek pemberian minyak jintan hitam konsentrasi 50%, 75%, dan 100% terhadap zona hambatan yang terbentuk lebih kecil dibandingkan efek disk antibiotik kotrimoksazol 25µg sebagai kontrol positif. Diduga hal tersebut disebabkan *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai lapisan dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (11-12%) dan struktur

dinding sel berlapis tiga. Selaput luar yang dimilikinya mempunyai daya permeabilitas yang tinggi terhadap zat terlarut, sehingga zat aktif yang terdapat pada minyak jintan hitam kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Dari hasil penelitian tentang efek antimikroba minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, dapat diambil simpulan bahwa minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terbukti bermakna secara statistik ($p < 0,05$) dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Semakin tinggi konsentrasi minyak jintan hitam maka zona hambatan yang terbentuk semakin besar pula, tetapi pengaruh minyak jintan hitam lebih lemah dibanding dengan kotrimoksazol (kontrol positif).

Simpulan

Setelah dilakukan penelitian tentang efek antimikroba minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, maka peneliti menganjurkan:

1. Menggunakan kuman patogen lain untuk melihat ada tidaknya efek antimikroba dari minyak jintan hitam (*Nigella sativa*).
2. Menggunakan *Escherichia coli* isolat standar sebagai pembanding efektivitas daya antimikroba minyak jintan hitam terhadap *Escherichia coli* sampel.
3. Melakukan penelitian dengan minyak jintan hitam asal Indonesia untuk mengetahui efek antimikroba yang dimilikinya.
4. Menggunakan pelarut (minyak kelapa) sebagai kontrol negatif untuk meyakinkan bahwa zona hambatan yang terbentuk benar-benar berasal dari aktivitas antimikroba minyak jintan hitam.
5. Dilakukan penelitian lanjut tentang efek antimikroba minyak atau ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) in vivo.

Daftar Pustaka

Agarwal, R., Kharya, M.D., Shrivastava, R. 2006. Antimicrobial and Antihelminthic Activities of The Essential Oil of *Nigella sativa* linn. *Indian J Exp Biol.* 17(11): 1264-5

Al-Jabre, S., Al-Akloby, O.M., Al-Qurashi, A.R. 2003. Thymoquinone, an Active Principle of *Nigella sativa*, Inhibited *Aspergillus niger*. *Pakistan J. Med. Res.* 42(3). Abstrak

Ardiansyah. 2007. *Antimikroba dari Tumbuhan*. [http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2007-06-09-Antimikroba-dari-Tumbuhan-\(Bagian-Kedua\).shtml](http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2007-06-09-Antimikroba-dari-Tumbuhan-(Bagian-Kedua).shtml). (3 April 2008)

Arifiyah. 2007. Artikel tentang Obat Herbal Alami *Habbatus Sauda* (Jintan Hitam/Black Seed). http://arifiyahsblog.blogspot.com/2007/04/wonderful-black-seed-jintan-hitam_30.html. (29 Februari 2008)

Barieere, S.L., Jacobs, R.A. 1998. Penggunaan Klinik Antimikroba. Dalam: *Basic & Clinical Microbiology*. Jakarta: EGC: 784

Brooks, G.F., Butel, S., Morse, S.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg's*. Edisi 22. Jakarta: Salemba Medika: 357-8

Hashem, F.M., El-Kiey, M.A. 2002. *Nigella sativa* seeds of Egypt. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 3(1): 121-33

Hendrik. 2007. *Habbatus Sauda'*, Thibbun Nabawi Dalam Menangani Berbagai Penyakit dan Memelihara Kesehatan Tubuh. Jawa Tengah: Pustaka Al-Ummat: 94-7; 120-1

Dwiprahasto, Iwan. 2005. Kebijakan untuk Meminimalkan Risiko Terjadinya Resistensi Bakteri di Unit Perawatan Intensif Rumah Sakit. *JMPK.* 8(4): 177

Mashhadian, N.V., Rakhshandeh, H. 2005. Antibacterial and antifungal effects of *nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aureginosa*, and *C. albicans*. *Pak J Med Sci* 21(1): 47-52

Morsi, M.N. 2000. Antimicrobial Effect of Crude Extract of *Nigella sativa* on Multiple Antibiotics-Resistant Bacteria. *Acta Microbiologica Polonica* 49: 63-74

Randhawa, M.A., Al-Ghamdi, M.S. 2002. A review of pharmacotherapeutic effects of *Nigella sativa*. *Pakistan Medical Research Journal* 41: 2

Stern, J.L., Hagerman, A.E., Steinberg, P.D., Mason, P.K. 2000. Phlorotannin-protein interactions. *J. Chem. Ecol.* 22: 1887-99.

Sufrida, Y., Edi, J. 2006. *Sembuhkan Penyakit dengan Habbatus Sauda'*. Jakarta: Agro Media Pustaka: 11-5

Toama, M.A., Taha, S., El-Alfy, El-Fatraty, H.M., 2004. Antimicrobial activity of the volatile oil of *Nigella sativa* Linnaeus Seeds. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 6(2): 225-6

Tumari, Boimin. 2006. *Efektivitas Penggunaan Jintan Hitam (Nigella sativa) dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri Aeromonas hydrophila Secara In Vitro*. Seminar Nasional Tahunan III Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan. UGM. Abstrak

Uffe, B., 2007. *Structure and Function of Bacteria*. http://www.gram.au.dk/und/baktstruk_uffe.ppt. (19 Maret 2008)