

Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak *Nigella sativa* L. terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro

Laura Victoria Christina*, Risma Ikawaty, Sajuni

Fakultas Kedokteran Universitas Surabaya, Raya Kalirungkut, Surabaya 60293

*Corresponding author: lauravc158@gmail.com

Abstract—Infectious diseases remain a significant public health problem. One infectious disease can be caused by *Escherichia coli*. However, currently there is increasing resistance of *Escherichia coli* to several antibiotics. This has led to an increase in demand to develop new antibiotics that can overcome the development of resistance. Medicinal plants have enormous potential in the discovery of bioactive compounds that can fight resistant microorganisms. *Nigella sativa* L. is one such medicinal plant known for its antibacterial properties. The seed extract of *Nigella sativa* L. was obtained using the maceration method, resulting in four different concentrations: 12.5%, 25%, 50%, and 100%. These extracts were tested against *Escherichia coli* bacteria isolated on Mueller Hinton Agar media using the disk diffusion method. *Nigella sativa* L. seed extract with aquadest solvent produced average inhibition zone diameters of 0mm; 0mm; 0mm; 7mm, while with n-hexane solvent it produced average inhibition zone diameters of 0mm; 0mm; 0mm; 8.375mm at concentrations of 12.5%; 25%; 50%; 100%. The antibacterial activity of *Nigella sativa* L. seed extract was most effective at 100% concentration for both solvents. This study found no significant difference in antibacterial effectiveness between the aquadest and n-hexane solvent extracts of *Nigella sativa* L. against *Escherichia coli*.

Keywords: *nigella sativa* L., *Escherichia coli*, antibacterial

Abstrak—Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang penting. Salah satu penyakit infeksi dapat disebabkan oleh *Escherichia coli*. Namun, saat ini ada peningkatan resistensi *Escherichia coli* terhadap beberapa antibiotik. Hal ini menyebabkan peningkatan permintaan untuk mengembangkan antibiotik baru yang dapat mengatasi perkembangan resistensi. Tanaman obat memiliki potensi besar dalam penemuan senyawa bioaktif yang dapat melawan mikroorganisme resisten. *Nigella sativa* L. adalah salah satu tanaman obat yang dikenal memiliki sifat antibakteri. Ekstrak biji *Nigella sativa* L. diperoleh menggunakan metode maserasi, menghasilkan empat konsentrasi berbeda: 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Ekstrak-ekstrak ini diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi pada media Agar Mueller Hinton menggunakan metode difusi cakram. Ekstrak biji *Nigella sativa* L. dengan pelarut aquadest menghasilkan diameter zona hambat rata-rata 0mm; 0mm; 0mm; 7mm, sedangkan dengan pelarut n-heksana menghasilkan diameter zona hambat rata-rata 0mm; 0mm; 0mm; 8,375mm pada konsentrasi 12,5%; 25%; 50%; 100%. Aktivitas antibakteri ekstrak biji *Nigella sativa* L. paling efektif pada konsentrasi 100% untuk kedua pelarut. Penelitian ini menemukan tidak ada perbedaan signifikan dalam efektivitas antibakteri antara ekstrak pelarut aquadest dan n-heksana dari *Nigella sativa* L. terhadap *Escherichia coli*.

Kata kunci: *nigella sativa* L., *Escherichia coli*, antibakteri

Pendahuluan

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang penting, khususnya di negara berkembang (Permenkes, 2021). Penyakit infeksi salah satunya dapat disebabkan oleh bakteri. Antibiotik yang tidak digunakan dengan bijak dapat menyebabkan munculnya masalah resistensi (Antabe & Ziegler, 2019; Permenkes, 2021). Tanaman obat memiliki potensi yang sangat besar dalam penemuan senyawa bioaktif yang dapat melawan mikroorganisme yang resisten (Vaou *et al.*, 2021). Salah satu tanaman obat yang memiliki efek antibakteri yaitu Habbatusauda (*Nigella sativa* L.). Thymoquinone merupakan senyawa aktif yang utama. Senyawa ini mempunyai spektrum aktivitas luas (*broad spectrum*) dalam menghambat pertumbuhan beberapa strain bakteri (Yimer *et al.*, 2019).

Sebuah penelitian mendapatkan hasil yaitu ekstrak *Nigella sativa* L. memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* (Shafodino *et al.*, 2022). Penelitian lain juga menyimpulkan bahwa minyak dari *Nigella sativa* L. dan ekstrak menggunakan *aqueous* memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* (Sultani *et al.*, 2021). Penggunaan antibiotik yang tidak bijak dapat menyebabkan efektivitas antibiotik menurun sehingga potensi biji *Nigella sativa* L. sebagai agen antibakteri perlu dipertimbangkan. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan

penelitian terkait efektivitas ekstrak biji *Nigella sativa* L. terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan data yang dapat menjadi pertimbangan masyarakat dalam penggunaan biji *Nigella sativa* L. sebagai antibakteri.

Metode Penelitian

Hasil ekstraksi biji *Nigella sativa* L. menggunakan pelarut n-heksana dan aquades dibuat menjadi 4 jenis konsentrasi yaitu 12.5%, 25%, 50%, dan 100%. Ekstrak biji *Nigella sativa* L. diberikan melalui metode difusi cakram pada bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi di media Mueller Hinton Agar. Cakram antibiotik ciprofloxacin 5µg diberikan sebagai kontrol positif dan aquades dan n-heksana sebagai kontrol negatif. Setelah itu diamati efektivitas dari pemberian ekstrak biji *Nigella sativa* L. terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan mengukur diameter zona hambat dari masing-masing perlakuan. Diameter zona hambat diklasifikasikan menjadi 4 kategori yaitu efek antibakteri sangat kuat (≥ 20 mm), kuat (10-20mm), sedang (5-10mm), dan lemah (< 5 mm) (Davis & Stout, 1971).

Pengolahan dan analisis data dilakukan menggunakan *Statistical Product and Service* (SPSS). Uji normalitas menggunakan uji *Saphiro Wilk* sedangkan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Dilakukan Uji *Kruskal Wallis* untuk menguji apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara dua atau lebih kelompok variabel. Setelah itu untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara ekstrak biji *Nigella sativa* L. yang menggunakan pelarut aquades dan n-heksana, maka dilakukan uji Mann-Whitney.

Hasil

Hasil percobaan menunjukkan bahwa tidak didapatkan aktivitas antibakteri pada ekstrak biji *Nigella sativa* L. dengan pelarut aquades dan n-heksana di konsentrasi 12.5%, 25%, dan 50%. Namun, didapatkan aktivitas antibakteri pada ekstrak biji *Nigella sativa* L. dengan pelarut aquades dan n-heksana di konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter zona hambat 7mm dan 8.375mm (Tabel 1).

Tabel 1

Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Biji *Nigella sativa* L. dengan Pelarut Aquades

Konsentrasi	Ekstrak Biji <i>Nigella sativa</i> L. (Aquades)	Ekstrak Biji <i>Nigella sativa</i> L. (n-heksana)
12.5%	0	0
25%	0	0
50%	0	0
100%	7	8.375

Berdasarkan analisis data menggunakan SPSS, data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen (nilai signifikansi $< 0,05$). Uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi $< 0,05$ yang artinya ada perbedaan yang signifikan antara ekstrak biji *Nigella sativa* L. menggunakan pelarut aquades dan n-heksana, kontrol -, dan kontrol +. Kontrol- & 12.5%, Kontrol- & 25%, dan Kontrol- & 50% memiliki hasil *Sig.* > 0.05 yang artinya tidak ada perbedaan yang signifikan antara ekstrak biji *Nigella sativa* L. menggunakan pelarut aquades dan n-heksana dengan kontrol -. Pada Kontrol- & 100% memiliki hasil *Sig.* < 0.05 yang artinya ada perbedaan yang signifikan antara ekstrak biji *Nigella sativa* L. menggunakan pelarut aquades dan n-heksana dengan kontrol -. Uji Mann-Whitney didapatkan nilai signifikansi $> 0,05$ sehingga tidak terdapat perbedaan efektivitas antibakteri yang signifikan

antara ekstrak biji *Nigella sativa* L. yang menggunakan pelarut aquades dan n-heksana terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Bahasan

Senyawa dalam ekstrak biji *Nigella sativa* L. dengan pelarut aquades (polar) yang paling banyak ditemukan untuk efek antibakteri yaitu flavonoid, fenol (*thymoquinone*, *carvacrol*), terpenoid, alkaloid, tanin, dan saponin (Rusmarilin *et al.*, 2019; Shafodino *et al.*, 2022). Senyawa dalam ekstrak biji *Nigella sativa* L. dengan pelarut n-heksana (non polar) yang paling banyak ditemukan untuk efek antibakteri yaitu asam lemak (asam linoleat, asam oleat, dan asam palmitat) dan minyak atsiri (*p-cymene*, *carvacrol*, *thymoquinone*, dan *γ-terpinene*, *terpineol*) (Tiji *et al.*, 2022). Pada saat ekstraksi, polaritas zat dalam pelarut mempengaruhi senyawa yang dihasilkan. Pelarut yang polar hanya akan menarik senyawa polar begitupun juga pelarut yang non polar hanya akan menarik senyawa yang non polar (Leksono *et al.*, 2018).

Senyawa aktif yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh waktu, dan suhu ekstraksi. Semakin lama waktu ekstraksi maka semakin banyak penetrasi pelarut ke dalam bahan/bagaian tanaman. Semakin tinggi suhu ekstraksi maka semakin banyak senyawa yang diperoleh. Namun suhu ekstraksi yang terlalu tinggi dan waktu ekstraksi yang terlalu lama melebihi batas optimal akan mengakibatkan hilangnya senyawa (Asworo & Widwastuti, 2023; Ibrahim *et al.*, 2015; Muthoharoh, 2019).

Efek antibakteri lebih lemah pada bakteri gram negatif dikarenakan bakteri gram negatif memiliki membran sel luar (peptidoglikan dan lapisan lipopolisakarida) di dalam dinding sel yang berfungsi sebagai *barrier* permeabilitas (Shafodino *et al.*, 2022). Pada bakteri *Escherichia coli* sekitar 70-80% dari total membran lipid terdiri dari fosfatidiletanolamin. Kandungan fosfatidiletanolamin yang tinggi akan membuat bakteri kurang sensitif terhadap senyawa antibakteri tertentu (Cho *et al.*, 2021; Linggama *et al.*, 2019).

Kesimpulan

Ekstrak biji *Nigella sativa* L. menggunakan pelarut aquades dan n-heksana memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Ekstrak biji *Nigella sativa* L. menggunakan pelarut aquades dan n-heksana memiliki efek antibakteri terbaik pada konsentrasi 100% dengan kekuatan antibakteri sedang. Tidak terdapat perbedaan efektivitas antibakteri yang signifikan antara ekstrak biji *Nigella sativa* L. yang menggunakan pelarut aquades dan n-heksana terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Daftar Referensi

- Antabe, R., & Ziegler, B. R. (2019). Diseases, emerging and infectious. *International Encyclopedia of Human Geography*, 3(2), 389–391. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102295-5.10439-1>
- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh ukuran serbuk simplisia dan waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), 256–263. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>
- Cho, G., Lee, E., & Kim, J. (2021). Structural insights into phosphatidylethanolamine formation in bacterial membrane biogenesis. *Scientific Reports*, 11, 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85195-5>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 22(4), 659–665. <https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>
- Ibrahim, A. M., Yuniata, & Sriherfyna, F. H. (2015). Pengaruh suhu dan lama waktu ekstraksi terhadap sifat kimia dan fisik pada pembuatan minuman sari jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dengan kombinasi penambahan madu sebagai pemanis. *Jurnal Pangan Dan*

- Agroindustri*, 3(2), 530–541.
- Leksono, W. B., Pramesti, R., Widi, G., & Setyati, W. A. (2018). Jenis pelarut metanol Dan n-heksana terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Gelidium* sp . dari pantai drini Gunungkidul – Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(1), 9–16. <https://doi.org/https://doi.org/10.14710/jkt.v21i1.2236>
- Linggama, G. A., Montolalu, L. A. D. Y., Salindeho, N., Taher, N., Harikedua, S. D., Makapedua, D. M., & Damongilala, L. (2019). Aktivitas antibakteri ekstrak air rebusan daun mangrove segar *Sonneratia alba* di desa wori. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 7(2), 41–45.
- Muthoharoh. (2019). *Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu Ekstraksi Metode Ultrasonik terhadap Rendemen Ekstrak dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Stevia rebaudiana Bert. M* [Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah]. <https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/49548/1/Muthoharoh-FIKES.pdf>
- Permenkes. (2021). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 26 Tahun 2021 Tentang Pedoman Penggunaan Antibiotik*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Retrieved from https://yankes.kemkes.go.id/unduhuan/fileunduhuan_1658480966_921055.pdf
- Rusmarilin, H., Lubis, Z., Lubis, L. M., & Barutu, Y. A. P. (2019). Potential of natural antioxidants of black cumin seed (*Nigella sativa*) and sesame seed (*Sesamum indicum*) extract by microencapsulation methods Potential of natural antioxidants of black cumin seed (*Nigella sativa*) and sesame seed (*Sesamum indicum*). *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 260. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/260/1/012097>
- Shafodino, F. S., Lusilao, J. M., & Mwapagha, L. M. (2022). Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Nigella sativa* seeds. *PLoS ONE*, 17(8), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272457>
- Sultani, T. D. M. Al, Fakhri, S. A., & Al-Zuhairi, W. H. N. (2021). Comparison of the antimicrobial activity of *Nigella sativa* aqueous and oil extracts. *Iranian Journal of War & Public Health*, 13(4), 305–311. <https://doi.org/10.29252/ijwph.13.4.305>
- Tiji, S., Lakrat, M., Rokni, Y., Mejdoubi, E. M., Hano, C., Addi, M., Asehraou, A., & Mimouni, M. (2022). Characterization and antimicrobial activity of *Nigella sativa* extracts encapsulated in hydroxyapatite sodium silicate glass composite. *Antibiotics*, 11(2), 170. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antibiotics11020170>
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 1–28. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 1–28. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>