

AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK BIJI *Nigella sativa* TERHADAP VIABILITAS BAKTERI PROBIOTIK SECARA *IN VITRO* DAN *IN VIVO***IN VITRO AND IN VIVO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACT OF *Nigella sativa* SEEDS AGAINST PROBIOTICS BACTERIA****Ahmad Shobrun Jamil, Buhari Adi, Bayu Prasaja, Astri Ariani, Zulkipli Hardi**

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Malang
Email: jamilspeed@gmail.com (Ahmad Shobrun Jamil)

ABSTRAK

Biji *Nigella sativa* telah banyak diketahui khasiat farmakologisnya. Salah satu aktivitas farmakologis senyawa *N. sativa* adalah sebagai antimikroba. Untuk itu penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan mengetahui aktivitas antimikroba *N. sativa* terhadap flora normal saluran pencernaan manusia agar diketahui dosis terapi yang tepat dan tidak membahayakan keseimbangan flora normal saluran pencernaan. Penelitian ini dilaksanakan secara *in vitro* dan *in vivo*. Pengujian *in vitro* aktivitas antimikroba ekstrak biji *N. sativa* terhadap strain bakteri probiotik usus dilakukan dengan uji difusi cakram dengan perlakuan pemberian ekstrak *N. sativa* fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol konsentrasi 500 mg/ml; 250 mg/ml; 125 mg/ml; 62,5 mg/ml; 31,25 mg/ml; 15,625 mg/ml. Pengujian secara *in vivo* dilakukan dengan mencit dengan pemberian kombinasi antibiotik sefadroxil 1,3mg/20g BB mencit dan adjuvan berupa ekstrak *N. sativa* 1,3mg/20g BB, 2,6 mg/20g BB, dan 3,9mg/20g BB mencit. Hasil pengujian *in vitro* ekstrak biji *N. sativa* fraksi n-heksan memiliki potensi antimikroba tertinggi disusul kemudian fraksi etil asetat dan etanol. Daya antimikroba ekstrak biji *N. sativa* fraksi n-heksan muncul pada konsentrasi 15,63 mg/ml dan semakin kuat pada konsentrasi yang lebih tinggi. Secara *in vivo* didapatkan hasil dosis adjuvant ekstrak biji *N. sativa* 3,9 mg/20g BB memunculkan aktivitas antimikroba pada bakteri probiotik sebagai bagian flora normal di saluran cerna mencit.

Kata kunci : *N. sativa*, antimikroba, bakteri probiotik, *in vivo*, *in vitro*

ABSTRACT

Nigella sativa has a lot of pharmacological activities. One of those is the broad range antimicrobial activity. The aims of this research are to find out the antimicrobial activity against probiotic bacteria as normal flora in gastrointestinal track (GIT), in order to determine the appropriate dose which not harm for GIT normal flora. This research was conducted by *in vitro* and *in vivo* assay. *In vitro* assay for antimicrobial activity using disc diffusion method with n-hexane, ethyl acetate and ethanol fraction of *N. sativa* extract. The concentration of each fraction were varied into 500 mg/ml; 250 mg/ml; 125 mg/ml; 62.5 mg/ml, 31.25 mg/ml, 15.625 mg/ml, respectively. *In vivo* assay using mice (*Mus musculus*) to analyze the difference of the probiotic bacteria viability in the GIT of treated mice and in that of control mice. *N. sativa* extract at dose of 1.3 mg/20gBW, 2.6 mg/20gBW, and 3.9 mg/20gBW were used as adjuvant with sefadroxil 1,3 mg/20 g BB. The result showed that the n-hexane extract possessing the highest potency as antimicrobial against probiotic bacteria, with the minimum inhibitory concentration was

15,625 mg/ml. The in vivo assay shows that the dose of 1.3 mg/20gBW of mice has antimicrobial activity and so do the higher doses.

Key words: *antimicrobial, probiotic bacteria, N. sativa, in vivo, in vitro*

Pendahuluan

Nigella sativa telah banyak digunakan di Negara timur tengah untuk pengobatan alami. Tanaman ini dipercaya oleh masyarakat Asia, khususnya Timur Tengah dan Asia Tenggara memiliki khasiat pengobatan yang sangat banyak. Hal ini didasari oleh pengetahuan dan keyakinan masyarakat terhadap sabda Rasulullah SAW yang menyatakan bahwa “*Habbatus sauda’ (N. sativa)* adalah obat dari segala penyakit kecuali kematian”.

Salah satu kandungan dari *N. sativa* adalah minyak atsiri. Komponen utama minyak atsiri (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). Penelitian farmakologis tumbuhan ini telah banyak dilakukan dalam dua dekade terakhir. *N. sativa* memiliki khasiat diantaranya adalah stimulan peningkat imunitas tubuh, antihistamin, anti-diabetes, anti-hipertensi, anti inflamasi, antimikroba, dan antitumor (Mbarek et al., 2007).

Berdasarkan penelitian Khalid et al (2011) diketahui bahwa ekstrak

metanol *N. sativa* menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan pada bakteri Gram positif dan negatif antara lain *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*. Penelitian Halawani (2009) juga menghasilkan kesimpulan bahwa ekstrak minyak atsiri *N. sativa* jika digabungkan dengan antibiotik akan memiliki aktivitas antimikroba yang lebih besar.

Diketahui bahwa bakteri-bakteri probiotik merupakan bakteri yang bertempat di saluran pencernaan. Usus besar yang sehat harus mengandung probiotik (bakteri bersahabat) minimal 85% untuk mencegah kolonisasi mikroba buruk seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. yang menyebabkan diare, mual, sembelit, kembung, penyerapan makanan buruk dan masalah kesehatan lainnya (Lovita, 2010).

N. sativa diketahui memiliki aktivitas antimikrobia. Baik ekstrak biji maupun minyak tanaman tersebut menunjukkan aktivitas antimikrobia terhadap 260 isolat bakteri resisten antibiotik yang diuji oleh Bilal et al. (1996). Aktivitas antimikrobia pada ekstrak biji *N. sativa* tersebut terjadi pada hampir seluruh bakteri Gram positif dan beberapa strain Gram

negatif pada isolat-isolat yang diuji. Aktivitas paling tinggi diketahui pada strain *S. aureus*, baik yang resisten terhadap methicillin maupun yang sensitif. *S. epidermidis*, beta dan alfa *Streptococcus haemolitic*, *Neisseria* patogen, *Haemophyllus influenzae*, *Brucella melitensis* dan *Streptococcus faecalis*.

Bukti-bukti ilmiah tersebut menjadikan masyarakat semakin tertarik untuk mengkonsumsi biji *N. sativa*. Masyarakat bahkan memanfaatkan biji tersebut sebagai suplemen makanan yang diminum setiap hari dengan dosis yang relatif tinggi. Biji jintan hitam yang awalnya dikonsumsi hanya untuk terapi suatu penyakit mulai berubah pola konsumsinya menjadi suplemen makanan yang saat ini bahkan diminum setiap hari dengan dosis yang tinggi. Mengingat berbagai penelitian membuktikan bahwa *N. sativa* memiliki aktivitas antibakteri dan memiliki efek letal yang lebih tinggi jika dikombinasikan dengan antibiotik (Halawani, 2009, Abu-Zinadah, 2009). Hal tersebut memungkinkan adanya ancaman pada pertumbuhan mikroflora normal di saluran pencernaan manusia.

Mengingat berbagai penelitian membuktikan bahwa *N. sativa* memiliki

aktivitas antibakteri dan bahkan sebagian senyawa antibiotik memiliki efek letal yang lebih tinggi jika dikombinasikan dengan ekstrak biji *N. sativa* maka diperlukan standarisasi dosis untuk menghindari efek negatif *N. sativa* terhadap flora normal khususnya bakteri probiotik dalam saluran pencernaan, akibat penggunaannya dengan dosis yang berlebihan. Hal ini penting sebab bakteri probiotik juga memiliki berbagai manfaat bagi tubuh antara lain adalah meningkatkan resistensi inang terhadap patogen eksternal di dalam saluran pencernaan, mengontrol penyakit jika pemicu penyakit tersebut adalah mikroba yang ada dalam saluran pencernaan, mengurangi metabolisme mikroba toksigenik dalam saluran pencernaan, meningkatkan sistem imun inang (Crittenden et al., 2005). Selain itu diketahui pula bahwa bakteri golongan *Lactobacillus* sp. mampu mereduksi kadar kolesterol dalam darah dan memproduksi substrat antimikroba (Kimoto-Nira et al., 2007). Dengan demikian diperlukan informasi efek anti mikroba terhadap bakteri probiotik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak biji *N. sativa* terhadap bakteri

probiotik secara *in vitro* dan *in vivo* dalam tubuh *Mus musculus*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang tepat tentang dosis aman konsumsi biji *N. sativa* terhadap kesehatan flora normal saluran pencernaan. Penelitian juga memberikan informasi di bidang kesehatan yang bermanfaat untuk mengoptimalkan manfaat *N. sativa* bagi tubuh dan mengantisipasi ketidakseimbangan flora normal di dalam saluran pencernaan manusia akibat kesalahan pola konsumsinya.

Metode Penelitian

Fraksinasi Ekstrak N. Sativa sebagai Bahan Uji in vitro

Serbuk biji jinten hitam diperoleh sebanyak 500 g. Serbuk dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Serbuk dibasahi *n*-heksana sedikit demi sedikit sampai terbasahi semuanya, lalu ditambahkan lagi sampai serbuk terendam (1 L). Rendaman didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, pelarut hasil rendaman disaring dan disisihkan. Residu dikeringkan dan direndam lagi dengan *n*-heksana selama 24 jam, kemudian disaring dan larutannya ditampung kembali. Dilakukan berulang kali sampai larutan ekstraksi *n*-heksana tidak memberikan noda pada uji KLT. Dicatat volume hasil ekstraksinya.

Residu yang telah kering, hasil ekstraksi dengan pelarut pertama dimasukkan ke dalam bejana maserasi, ditambahkan etil asetat sedikit demi sedikit sampai serbuk terbasahi semuanya, lalu ditambahkan lagi ad 1 L. Rendaman didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, fraksi etil asetat disaring dari ampasnya dan disisihkan. Residu dikeringkan dan direndam lagi dengan etil asetat selama 24 jam, kemudian disaring dan larutannya ditampung kembali. Dilakukan berulang kali sampai larutan fraksi etil asetat tidak memberikan noda pada uji KLT. Dicatat volume fraksinya.

Residu yang telah kering dari hasil ekstraksi pelarut kedua dimasukkan ke dalam bejana maserasi, ditambahkan etanol 96% sedikit demi sedikit sampai serbuk terbasahi semuanya, lalu ditambahkan lagi ad 1 L. Rendaman didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, fraksi etanol disaring dari ampasnya dan disisihkan. Residu dikeringkan dan direndam lagi dengan etanol selama 24 jam, kemudian disaring dan larutannya ditampung kembali. Dilakukan berulang kali sampai larutan fraksi etanol tidak memberikan noda pada uji KLT. Dicatat volume fraksinya dan ampasnya dibuang. Masing-masing fraksi yang diperoleh

dipekatkan dengan rotavapor sampai didapatkan fraksi yang kental. Kemudian tiap fraksi dituang ke dalam cawan dan dibiarkan di oven dengan suhu < 60°C sampai sisa-sisa pelarut menguap, dan ditimbang. Tiap-tiap fraksi kemudian digunakan untuk penelitian.

Uji in vitro Fraksi n-Heksana, Etil asetat, dan Etanol dengan Uji Difusi Cakram

Disiapkan 6 tabung reaksi steril dan diberi label a sampai h. Untuk mendapatkan konsentrasi 500 mg/ml; 250 mg/ml; 125 mg/ml; 62,5 mg/ml; 31,25 mg/ml; 15,625 mg/ml, maka terlebih dahulu dibuat konsentrasi larutan induk 500 mg/ml. Pada tabung larutan induk, ditimbang 5 g fraksi n-heksana, etil asetat, atau etanol, dicampurkan dengan tween secukupnya sebagai emulgator, ditambahkan aquadest steril sampai 10,0 mL. Kemudian dikocok sampai homogen, didapatkan konsentrasi 500.000 ppm (500 mg/ml). Masing-masing tabung (b-f) diisi dengan 2 ml aquadest steril. Tabung a diisi dengan 4 ml larutan induk jintan hitam konsentrasi 500 mg/ml. Kemudian tabung a dikocok dengan vorteks. Diambil 2 ml larutan dari tabung a, kemudian tuang ke dalam tabung b, kocok dengan vorteks, begitu seterusnya sampai tabung f. Setelah itu 2 ml larutan dari tabung f dibuang.

Cawan berisi media MRS AGAR diinokulasi dengan bakteri probiotik (*Lactobacillus acidophyllus* dan *L. plantarum*) kemudian dipasang cakram. Cakram ditetesi dengan ekstrak hasil fraksinasi dan diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan pengukuran zona jernih di sekeliling cakram.

Pembuatan Ekstrak Biji N. sativa untuk Uji in vivo

Prosedur persiapan ekstrak *N. sativa* adalah modifikasi metode Farah (2005). Bubuk *N. sativa* didapatkan secara komersial. Serbuk *N. sativa* diekstrak dengan pelarut etanol. Sebanyak 50 g bubuk *N. sativa* ditambah dengan 100 ml etanol 95% kemudian dihomogenasi. Larutan disimpan dalam refrigerator suhu 4°C dalam waktu semalam. Ekstrak *N. sativa* dalam etanol kemudian dikeringkan dalam *Rotary Evaporator* suhu. Produk hasil pengeringan sebanyak 1000 mg kemudian dilarutkan dengan 1 ml tween 80. Hasil ekstrak alkohol selanjutnya diencerkan sesuai dosis konversi manusia-mencit sehingga ditentukan perlakuan konsentrasi ekstrak sebagai adjuvant antibiotik yaitu 1,3mg/20g BB, 2,6 mg/20g BB, dan 3,9mg/20g BB mencit. Sementara konsentrasi perlakuan antibiotik sefadroxil dari hasil konversi yaitu 1,3 mg/20g BB mencit.

Pengujian in vivo Ekstrak N. sativa pada mencit Mus musculus

Pengujian *in vivo* dilakukan dengan terlebih dahulu membagi kelompok perlakuan mencit secara

random menjadi lima kelompok. Kelompok kontrol netral, kelompok kontrol negatif, perlakuan ekstrak 1,2 dan 3. Dengan rician sebagaimana pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengujian *in vivo* Ekstrak pada mencit *Mus musculus*

No	Perlakuan	Jumlah Tikus
1	Kontrol netral, mencit dalam keadaan normal diberikan aquades saja	5
2.	Kontrol negatif, mencit diberikan antibiotik sefadroxil 1,3 mg/20 g BB	5
3.	Kelompok uji 1, mencit diberi antibiotik sefadroxil 1,3 mg/20 g BB dan ekstrak jintan hitam dosis 1,3 mg/20 gram BB	5
4.	Kelompok uji 2, mencit diberi antibiotik sefadroxil 1,3 mg/20 g BB dan ekstrak jintan hitam dosis 2,6 mg/20 gram BB mencit	5
5.	Kelompok uji 3, mencit diberi antibiotik sefadroxil 1,3 mg/20 g BB dan ekstrak jintan hitam dosis 3,9 mg/20 gram BB mencit	5

Isolasi dan Penghitungan Bakteri Probiotik/Asam Laktat Hasil Uji in vivo

Penghitungan jumlah total bakteri probiotik pada feses dan usus tikus. tikus dilakukan tiga hari sekali, dimulai pada hari ke-0 atau sebelum perlakuan serta 3 hari masa perlakuan dan 7 hari masa perlakuan (hari terakhir). Sedangkan penghitungan jumlah total bakteri asam laktat dari usus tikus dilakukan 7 hari (perlakuan berakhir). Jumlah koloni total BAL dihitung berdasarkan *Total Plate Count* (TPC) dengan metode *pour plate* menggunakan media MRS Agar. diencerkan dengan 100 ml larutan NaCl fisiologis. Bakteri kemudian ditumbuhkan dalam media MRS (de

Mann, Rogosa, Sharpe) Agar. Ke dalam media MRS Agar yang telah disiapkan sebelumnya ditambahkan 60 ppm bromcresol purple (BCP) sebagai indikator pH. Sebanyak 0,1 ml sampel cairan rumen kemudian dituang ke dalam petri yang berisi 15 ml media MRS Agar + BCP yang bersuhu 45°C. Setelah padat, media MRS Agar diinkubasikan dengan suhu inkubasi 37°C selama 2 hari. Adanya bakteri probiotik ditandai dengan adanya koloni bakteri yang berwarna kuning sebagai ciri dihasilkannya asam (karena bakteri probiotik termasuk juga golongan bakteri asam laktat yang menghasilkan asam) yang berperan dalam merubah

warna indikator pH BCP pada media MRS Agar dari ungu menjadi kuning.

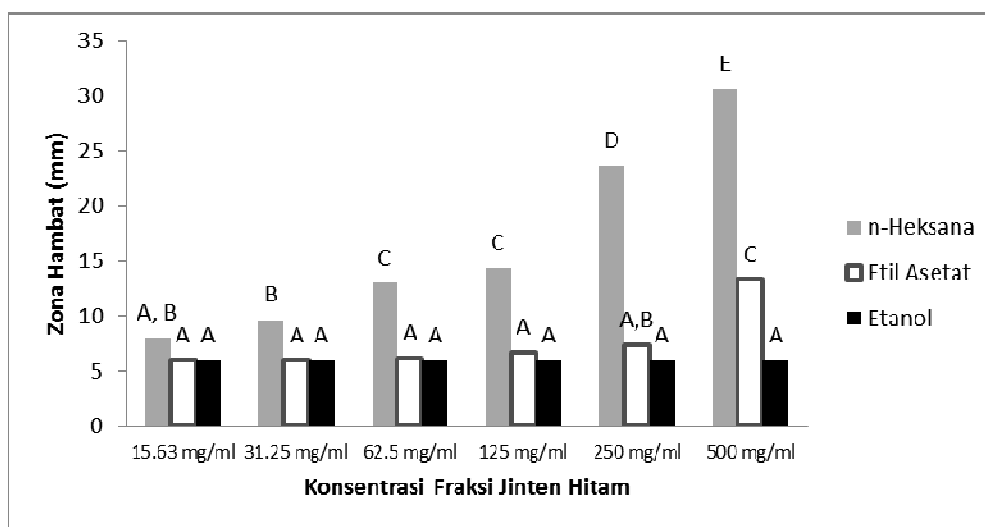
Analisis Data

Parameter uji yang akan diamati dalam penelitian ini pertama adalah diameter zona hambat pada penelitian *in vitro* serta jumlah koloni bakteri probiotik yang tumbuh dalam medium MRS AGAR pada penelitian *in vivo*. Setelah hasil diketahui maka dilakukan uji homogenitas data dilanjutkan dengan analisis ragam (ANOVA). untuk mengetahui signifikansi pemberian ekstrak *N. sativa* terhadap pertumbuhan bakteri probiotik secara *in vitro* serta perbedaan viabilitas bakteri probiotik usus tikus.

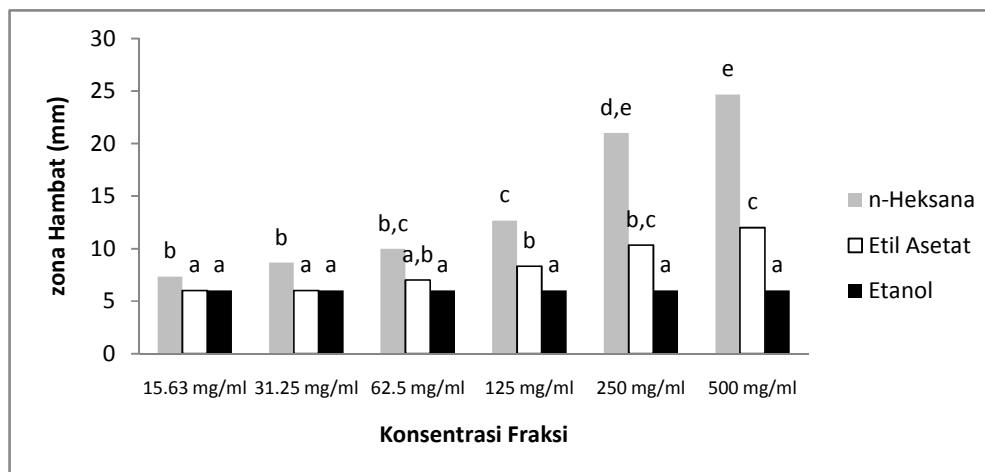
Hasil

Hasil Uji *in vitro* Fraksi n-Heksana, Etil asetat, dan Etanol dengan Uji Difusi Cakram

Hasil uji *in vitro* Fraksi n Heksan, Etil Asetat dan Etanol pada bakteri probiotik *L. acidophyllus* diperoleh hasil bahwa pelarut n-heksan diketahui paling efektif menyari senyawa aktif antimikroba dalam biji *N. sativa*. Sebagaimana tampak pada Gambar 1. diketahui bahwa dalam konsentrasi 31,25 mg/ml (konsentrasi uji terendah kedua) fraksi n heksan tampak memiliki aktivitas penghambatan paling tinggi.



Gambar 1. Hasil uji *in vitro* aktivitas antimikroba fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol ekstrak *N. Sativa* pada bakteri probiotik *L. acidophyllus* dengan Uji Difusi Cakram



Gambar 2. Hasil uji *in vitro* aktivitas antimikroba fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol ekstrak *N. sativa* pada bakteri probiotik *L. plantarum* dengan Uji Difusi Cakram

Sebagaimana hasil uji *in vitro* pada *L. acidophyllus* diketahui juga bahwa dalam uji *in vitro* pada *L. plantarum* didapatkan hasil yang mirip sebagaimana ada pada Gambar 2. Hal ini juga menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan dari ekstrak *N. sativa* dalam fraksi n Heksan pada bakteri probiotik *L. acidophyllus* dan *L. plantarum*.

Hasil Uji *In vivo* Ekstrak pada mencit *Mus musculus*

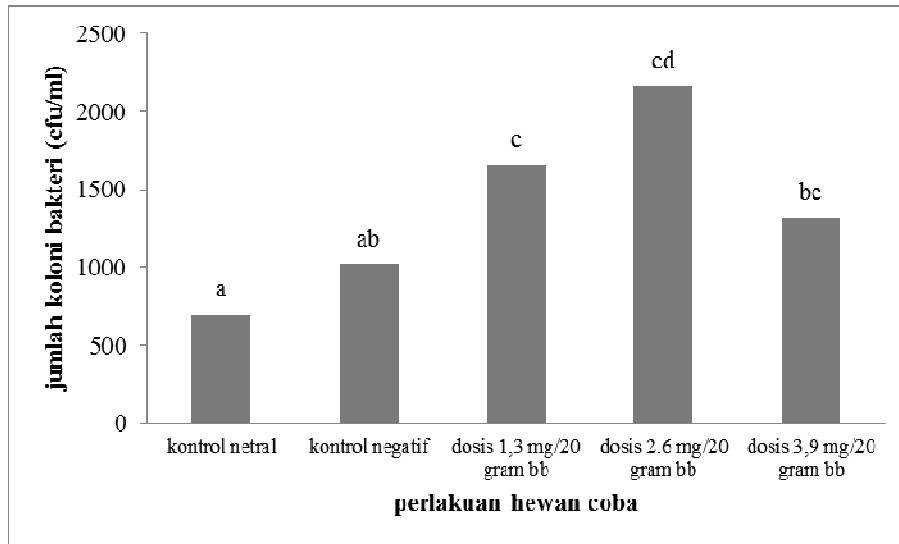
Pemberian perlakuan pada hewan coba dilakukan secara peroral yaitu dengan cara disonde. Dalam penelitian terbagi menjadi lima perlakuan yaitu kelompok pertama, kelompok kontrol netral yaitu mencit yang tidak diberi perlakuan apapun, kelompok kedua, kelompok kontrol negatif yaitu mencit yang hanya

diberikan antibiotik dalam hal ini antibiotik yang dipakai adalah sefadroksil, yang merupakan antibiotik golongan sefalosporin yang bersifat bakterisidal dan berspektrum luas dosis yang diberikan sebesar 1,3 mg/20 gram BB mencit, kelompok ketiga kelompok yang diberikan antibiotik dan ekstrak jintan hitam dengan dosis masing-masing 1,3 mg/20 gram BB mencit, kelompok keempat, kelompok yang diberikan antibiotik dan ekstrak jintan hitam dengan dosis masing-masing 2,6 mg/20 gram BB mencit dan kelompok kelima, kelompok yang diberikan antibiotik dan ekstrak jintan hitam dengan dosis masing-masing 3,9 mg/20 gram BB mencit. Pemberian perlakuan dilakukan selama tujuh hari berturut-turut, yang diawali dengan penyondean

antibiotik terlebih dahulu kemudian diberi jarak sekitar tigapuluh menit baru diberikan ekstrak jintan hitam hal ini dilakukan Agar mencit tidak mengalami stres. Setelah perlakuan hari ketujuh fases mencit dikumpulkan dan diuji viabilitas bakteri probiotik untuk mengetahui jumlah koloni bakteri probiotik dalam fases mencit. Bakteri probiotik adalah bakteri penghasil asam laktat sehingga penumbuhannya secara laboratoris dilakukan dengan menggunakan medium selektif bakteri asam laktat yaitu MRS Agar.

Fases mencit yang telah dikumpulkan dari semua kelompok perlakuan dimasukkan dalam masing-masing tabung dan dilakukan pengenceran, cairan pengenceran menggunakan larutan elektrolit NaCl, hal ini dilakukan Agar bakteri yang tumbuh pada Agar tidak terlalu padat

dan mempermudah perhitungan. Hasil dari pengenceran kemudian dipipet menggunakan pipet ukur sebanyak 0,1 ml kemudian ditanamkan pada medium Agar yang telah disediakan. Medium Agar yang digunakan dalam penelitian ini yaitu medium MRS Agar. MRS Agar selektif untuk bakteri yang menghasilkan asam laktat. Untuk lebih mendukung dalam hal identifikasi bakteri asam laktat maka digunakan indikator pH yaitu bromocresol green, adanya bakteri probiotik pada media ditandai dengan berubahnya warna hijau pada media menjadi kuning, hal ini karena bakteri probiotik menghasilkan asam laktat yang mengubah media dari hijau menjadi kuning. Media yang telah ditanamkan bakteri probiotik menggunakan metode pour plate dari fases mencit kemudian diinkubasi selama kurang lebih 24-48 jam.



Gambar 3. Viabilitas bakteri probiotik dengan perlakuan pemberian ekstrak *N. sativa* per oral dalam saluran pencernaan mencit *Mus musculus*

Jumlah bakteri probiotik yang terdapat pada media dihitung kemudian dilakukan analisa menggunakan *one way ANOVA*. Hasil dari analisa menggunakan *anova* menunjukkan kelompok kontrol netral, mencit yang tidak diberi perlakuan apapun dan kelompok kontrol negatif yang diberi antibiotik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna artinya mencit yang tidak diberi perlakuan dengan mencit yang diberi antibiotik dengan dosis lazim jumlah koloni bakteri probiotik menunjukkan hasil yang sama. Hasil perbedaan yang bermakna ditunjukkan oleh kelompok perlakuan dengan dosis 1,3 mg/20 gram BB mencit, dan kelompok perlakuan dengan dosis 2,6 mg/20 gram BB mencit bila dibandingkan dengan kelompok

kontrol negatif. jumlah koloni pada perlakuan dosis 1,3 mg/20 gram BB mencit dan dosis 2,6 mg/20 gram BB mencit lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (Gambar 3).

Pembahasan

Hasil penelitian ini cukup sesuai dengan hipotesis sebelumnya yang menyatakan bahwa jinten hitam (*N. sativa*) mempunyai aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *L. acidophilus*, karena adanya kandungan *thymoquinone* dan *thymohydroquinone* di dalamnya (Mashhadian & Rakhshandeh, 2005). Kandungan yang menghambat pertumbuhan bakteri tersebut paling banyak berada pada

fraksi *n*-heksana (non polar) yang sebagian besar terdiri dari minyak atsiri.

Senyawa aktif yang terkandung didalam biji *N. sativa* diantaranya adalah Nigellisine, nigellidine, nigellimine-N-oksida, thymoquinone, dithymoquinone, thymohydroquinon, nigellone, thymol, arvacrol, oxy-coumarin, 6-methoxycoumarin, dan 7-hydroxy-coumarin, alpha-hedrin, steryl-glucoside, selain itu juga mengandung flavinoids, tannins, asam amino esensial, asam askorbat, besi dan kalsium (Randhawa 2008).

Dari hasil penelitian dengan metode difusi cakram, dilakukan analisis statistik menggunakan *One-Way Anova* didapatkan hasil bahwa fraksi *n*-heksana jinten hitam dengan konsentrasi 500 mg/ml memiliki aktivitas yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*. Sedangkan semua konsentrasi dari fraksi etanol serta fraksi etil asetat jinten hitam dengan konsentrasi 15,63 mg/ml sampai 125 mg/ml, tidak memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*.

Dari hasil penelitian uji aktivitas fraksi jinten hitam dengan metode difusi cakram didapatkan data bahwa konsentrasi terkecil yang menghambat pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*

adalah konsentrasi 15,63 mg/ml diambil dari fraksi *n*-heksana. Konsentrasi tersebut dianggap sebagai konsentrasi umum terkecil dalam fraksi jinten hitam yang menghambat pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*. Setelah dikonversi maka didapatkan hasil bahwa 15,63 mg fraksi *n*-heksana terdapat dalam 62,68 mg serbuk jinten hitam.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa mencit yang diberikan antibiotik dikombinasi dengan ekstrak jintan hitam memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri probiotik didalam usus mencit, jumlah koloni meningkat pada pemberian dosis 1,3 mg/20 gram BB mencit dan 2,6 mg/20 gram BB mencit jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Timokuinon yang merupakan zat yang terkandung dalam jintan hitam yang dipercaya mempunyai kemampuan sebagai antibiotik bekerja secara selektif, artinya tidak semua bakteri terpengaruh efek antibakteri timokuinon.

Hasil penelitian ini cukup sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Chaib et al, 2011) yang menyatakan timokuinon menunjukkan sifat selektif antimikroba, hal ini ditunjukkan dengan aktifitas bakteridal pada tujuh dari

sebelas galur uji dengan nilai MIC (*minimum inhibitory concentration*) dan MBC (*minimum bactericidal concentration*) berturut-turut berkisar antara 8 sampai 32 µg/ml dan 8 sampai 64 µg/ml. Bakteri yang selektif menurut penelitian ini yaitu *Vibrio paraheamolyticus* ATCC 17802, Gram positif bacilli *B. cereus* ATCC 1457, *Listeria monocytogene* ATCC 19115, Gram positif cocci *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* NCIMB 8166, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* CIP 106510 dan tidak memberikan efek atau efek yang rendah yaitu pada Gram negatif bacilli *Escherichi coli* ATCC 35218, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. enterica* serovar *Typhimurium* ATCC 14028, *V. alginolyticus* ATCC 33787.

Penelitian Ali et al. (2007) mendapatkan hasil bahwa ekstrak eter *N. sativa* efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Alhaj et al. (2008) melaporkan dalam penelitiannya bahwa ekstrak minyak *N. sativa* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *S. aureus* (MRSA) ATCC 700968. Bakteri resisten carbapenam acenitobacter yaitu strain *Baumanii* (CRAB) strain klinik dan *V. cholerae*. Namun ekstrak minyak tanaman ini

tidak aktif terhadap bakteri yang memiliki *Extended-Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) seperti *E. coli* ATCC strain (25922), *E. coli* 0157 ATCC strain (12799), *Klebsiella pneumoniae* ATCC strain (700603).

Jumlah bakteri probiotik lebih tinggi pada dosis 1,3 mg/20 gram BB mencit dan 2,6 mg/20 gram BB mencit dimungkinkan karena timokuinon yang terkandung dalam serbuk biji jintan hitam selektif dengan bakteri atau flora normal lain dalam usus. Flora normal lain dalam hal ini bakteri patogen berkurang karena penggunaan antibiotik yang dikombinasikan dengan jintan hitam sehingga jumlah bakteri probiotik dalam usus mencit meningkat. Meningkatnya jumlah bakteri probiotik berbanding lurus dengan meningkatnya derajat keasaman usus, suasana asam menghambat pertumbuhan bakteri patogen usus. Kandungan jintan hitam dapat menetralkan efek dari pemberian antibiotik sehingga bakteri probiotik meningkat.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa serbuk biji *N. sativa* memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri probiotik (*L. acidophyllus* dan *L. plantarum*) secara

in vitro dengan kadar hambat minimum 31,25 mg/ml. Sedangkan secara *in vivo* dosis 1,3 mg/20g BB dan 2,6 mg/20 g BB meningkatkan viabilitas bakteri probiotik/asam laktat secara umum dan baru menunjukkan aktivitas penghambatan pada dosis 3,9 mg/20 g BB.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat yang telah memberikan pendanaan penelitian ini sehingga berjalan dengan lancar.

Daftar Pustaka

- Abu-Zinadah, O. A. 2009. Using *N. sativa* oil to treat and heal chemical induced wound of rabbit skin. *JKAU: Sci.*, 21(2): 335-346.
- Alhaj, N.A., Shamsudin, M.N., Zamri, H.F., Abdullah, R. 2008. Extraction of essential oil from *N. sativa* using supercritical carbon dioxide: Study of antibacterial activity. *Amer. J. Pharmacol. Toxicol.* 3 (4): 225-228.
- Al-Jabre, S., Al-Akloby, O.M., Al-Qurashi, A.R. 2003. Thymoquinone, an active principle of *N. sativa*, inhibited *Aspergillus niger*. *Pakistan J. Med. Res.*, 42(3).
- Ali, O., Basbullbul, G., Aydin, T. 2007. Antimitotic and antibacterial effects of the *N. sativa* L. seed. *Caryologia.* 60(3): 270-272.
- Bilal, N.E., A Batouk, S. Abu-Eshy, B. Al Ghamdi, A.A. Wabel. 1996. Antimicrobial effect of *N. sativa* on selected Microorganism. *Jour. Hepatol. Gastroenterol. Infect. Diseases, JHGID.* 4(4): 105-111.
- Crittenden, R., Bird, A.R., Gopal, P., Henriksson, A., Lee, Y.K., Playne, M.J. 2005. Probiotic research in Australia, New Zealand and the Asia-Pacific Region. *Curr. Pharmaceutical Design*, 11: 37-53.
- Farah, I.O. 2005. Assessment of cellular responses to oxidative stress using MCF-7 breast cancer cells, Black Seed (*N. sativa* L.) extracts and H₂O₂. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2(3): 411-419.
- Halawani, E. 2009. Antibacterial activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *N. sativa* L. and their interaction with some antibiotics. *Advances in Biological Research* 3(5-6): 148-152.
- Kimoto-Nira, H., Mizumachi, K., Nomura, M., obayashi, M., Fujita, Y., Okamoto. T., Suzuki, I., Tsuji, N.M., Kurisaki, J., Ohmomo, S. 2007. *Lactococcus* sp. as potential probiotic Lactic Acid Bacteria. *JARQ*, 41 (3), 181 – 189.
- Khalid, A., Ur-Rehman, U., Sethi, A., Khilji, S., Fatima, U., Khan, M.I., Waqas, M.K., Najam-us-Saqib, Q., Asad, M.H.H., Farzana, K., Mahmood, S., Waseem, A., Ismail, T., Murtaza, G. 2011. Antimicrobial activity analysis of extracts of *Acacia modesta*, *Artimisia absinthium*, *N. sativa* and *Saussurea lappa* against Gram positive and Gram negative microorganisms. *African Journal*

of Biotechnology, 10(22): 4574-4580

Lovita, S.A., Ratu, S., Osfar, S., Sirajudin, A., Rita, R., Hendronoto, AWL., Andi, M. 2010. Probiotik; Basis Ilmiah, Aplikasi, dan Aspek Praktis. Bandung: Widya Padjajaran. Hal 22, 47-54, 65, 70, 94, 123-124.

Mashadian, N.V., Rakhshandeh, H. 2005. Antibacterial and antifungal effects of *N. sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aureginosa*,

and *C. albicans.*, *Pak. J. Med. Sci.*, 21(1): 47-52.

Mbarek, L.A., Mouse, H.A., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., Benharref, A., Chait, A., Kamal, M., Dalal, A., Ziad, M. 2007. Anti-tumor properties of blackseed (*N. sativa* L.) extracts. *Braz J Med Biol Res.*

Randhawa, M.A., Al-Ghamdi, M.S. 2008. A review of pharmacotherapeutic effects of *N. sativa*. *Pakistan Medical Research Journal*, 41: 2