

**Effectiveness of Habbatussaudah Antibacterial Ability towards
Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

Aditya Amrullah, Mieke H Satari

Faculty of Dentistry, Universitas Padjadjaran

ABSTRACT

Habbatussaudah (*Nigella sativa*) is a plant that is often used as traditional medicine since centuries ago. This plant has an antibacterial effect including, among others, antibacterial effect towards Meticillin resistant *Staphylococcus aureus*.

The design of this study is a laboratory experimental study using serial dilution to determine the minimum inhibition concentration of *Habbatussaudah* oil that is diluted in Polyethylene Glycol 400 with a serial concentration of 64%, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5%. The MRSA suspension used is based on Mc Farland 0.5 standard. In addition, a contact time observation is also performed starting from 0.5 to 1, 2 and 4 minutes.

The results of the study show that *Habbatussaudah* inhibits MRSA growth in a concentration of 1% and 4 minute contact time. It is also found that the longer the contact time, the lower the number of growing MRSA.

From that result it is concluded that *Habbatussaudah* has antibacterial effect towards MRSA.

Key word: *Habbatussaudah*, *Nigella sativa*, *Staphylococcus aureus*, Meticillin resistant *Staphylococcus aureus*.

Efektivitas Daya antibakteri Habbatussaudah terhadap Staphylococcus aureus Resisten Metisilin (MRSA)

Aditya Amrullah, Mieke H Satari

FKG Universitas Padjadjaran

ABSTRAK

Habbatussaudah (*Nigella sativa*) merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional sejak berabad abad yang lalu. Tanaman ini memiliki efek sebagai antibakteri. Salah satunya terhadap *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap Metisilin.

Rancangan Penelitiannya yaitu Eksperimental laboratorium dengan metode pengenceran seri untuk menentukan nilai konsentrasi hambat minimal Habbatussaudah dalam bentuk oil yang dilarutkan dengan menggunakan Poli Etilen Glikol 400 dengan konsentrasi 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 dan 0,5%. Suspensi MRSA yang digunakan berdasarkan Standart Mc Farland 0,5. Disamping itu dilakukan pula penentuan waktu kontak yang dimulai dari 0,5. 1.2 dan 4. menit

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa habbatussaudah menghambat pertumbuhan MRSA pada konsentrasi 1% dengan waktu kontak lebih dari 4 menit, semakin lama waktu kontak jumlah MRSA yang tumbuh makin sedikit.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah Habbatussaudah memiliki daya antibakteri terhadap MRSA.

Kata kunci: Habbatussaudah, *Nigella sativa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap Metisilin.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah satu negara yang kaya akan tanaman tradisional diantaranya memiliki khasiat sebagai tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional yang dikenal sebagai tanaman obat yang dapat digunakan sebagai bahan obat . Tanaman obat ini memiliki potensi yang perlu dikembangkan secara sungguh-sungguh untuk kepentingan kesejahteraan masyarakat.

Pengelolaan dan pengembangan tumbuhan obat belum dilakukan secara optimal, karena minimalnya pengetahuan masyarakat tentang pengolahan obat tradisional. Berdasarkan penelitian terdapat beberapa kelebihan dan efektifitas obat tradisional, selain murah, pengobatan dengan tumbuhan obat mudah dan aman¹. Namun belakangan ini, kecenderungan gaya hidup yang mengarah kembali ke alam (*back to nature*) membuktikan bahwa hal yang alami bukanlah primitif.²

Habbatussaudah (*Nigella sativa Linn*) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat yang dirasakan manfaatnya untuk meningkatkan sekresi ASI, mengobati berbagai penyakit, termasuk asma, hipertensi, diabetes, peradangan, batuk, bronchitis, eksim, demam, dan pusing serta influenza³. Habbatussaudah oleh masyarakat Indonesia ini dikenal sebagai Biji dan minyak jinten hitam telah digunakan bangsa ini untuk obat tradisional dari abad ke abad. Menurut ajaran Islam tanaman tradisional ini mempunyai khasiat sebagai obat dari segala penyakit.⁴

Pada penelitian sebelumnya, Habbatussaudah memiliki daya antibakteri.⁵ Para peneliti sedang intensif mencari zat antibakteri tanaman ini, karena masyarakat

lebih tertarik dengan pengobatan herbal dan karena telah banyak ditemukan bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik.^{6,7}

Di Indonesia Habbatussaudah dikenal sebagai jinten hitam atau jinten jamu. Biji jinten ini berbau khas aromatik, rasanya pahit. Sebagai tanaman obat yang memiliki daya antibakteri, Habbatussaudah diharapkan dapat membantu mengatasi masalah bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik. Zat aktif yang terkandung dalam Habbatussaudah diantaranya yaitu *thymohydroquinon* yang termasuk golongan quinon, selain itu juga mengandung phenylpropanoid yang merupakan golongan fenol, disamping itu mengandung pula Saponin yang merupakan gugus aminoglikosida⁸, zat aktif ini mampu menghambat pertumbuhan MRSA. Dalam hal ini quinon dengan cara mengganggu proses replikasi yang terjadi pada intisel, fenol dan saponin merusak dinding sel membran sitoplasma dan terjadi denaturasi protein.

Saat ini telah ditemukan *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap banyak antibiotik yang dikenal dengan *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Ada beberapa galur *S. aureus* yang telah multiresisten. Meskipun pada awalnya metisilin digunakan untuk mengatasi infeksi *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap penisilin, namun setelah dua tahun penggunaannya bakteri tersebut tidak sensitif lagi terhadap metisilin. Bakteri ini merupakan galur *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik golongan β -laktam yang tahan β -laktamase.^{9,10} Galur MRSA umumnya terdapat diberbagai belahan dunia. Jika terinfeksi bakteri ini menyebabkan infeksi serius dan pilihan terapi antimikrobanya kadang sulit ditemukan.

Penelitian efektivitas antibakteri Habbatussaudah inipun pernah dilakukan terhadap *Streptococcus piogenes*, *Pseudomonas aerogeninosa*, *Neisseria Staphylococcus aureus* bakteri bakteri ini merupakan bakteri yang multidrug resisten.⁴ *Enterococcus faecalis* yang merupakan bakteri yang menyebabkan terjadinya kegagalan perawatan endodontik dengan pemberian Habbatussaudah dapat mengurangi kegagalan perawatan endodontik.

Berdasarkan uraian tersebut diatas maka perlu dilakukan pengujian daya antibakteri minyak Habbatussaudah (*Nigella sativa*) terhadap MRSA dengan menentukan konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan MRSA serta waktu yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan MRSA.

Metodologi Penelitian

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen laboratorium untuk menguji daya antibakteri dari minyak *Nigella sativa* terhadap *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) berdasarkan uji sensitifitas bakteri dengan metode Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan waktu kontak.

Sampel MRSA yang digunakan berasal dari beberapa rumah sakit di Bandung. Pada penelitian ini digunakan 20 isolat MRSA yaitu isolat *Staphylococcus aureus* yang sebelumnya di lakukan uji sensitifitas dengan cakram antibiotik metisilin. Hasil uji sensitifitas diperoleh apabila didapat daerah hambat $\leq 9\text{mm}$ maka bakteri tersebut resisten terhadap metisilin Habbatussaudah yang digunakan dalam bentuk minyak yang berasal dari biji jinten hitam yang diekstrak

menggunakan petroleum eter selama 4 jam, kemudian ekstrak yang didapat di campur dengan n-hexane . Lapisan organik yang terbentuk dibuang lalu dikisat pada tekanan rendah dan dikeringkan dengan anhydrous sodium fosfat.

Zat Antimikroba	Diameter zona hambat (mm terdekat)		
	Resisten	Intermediet	Sensitif
Metisilin 5ug	≤ 9	10-13	≥ 14

Tabel 1. Standard Interpretasi Zona Hambat Menurut NCCLS

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

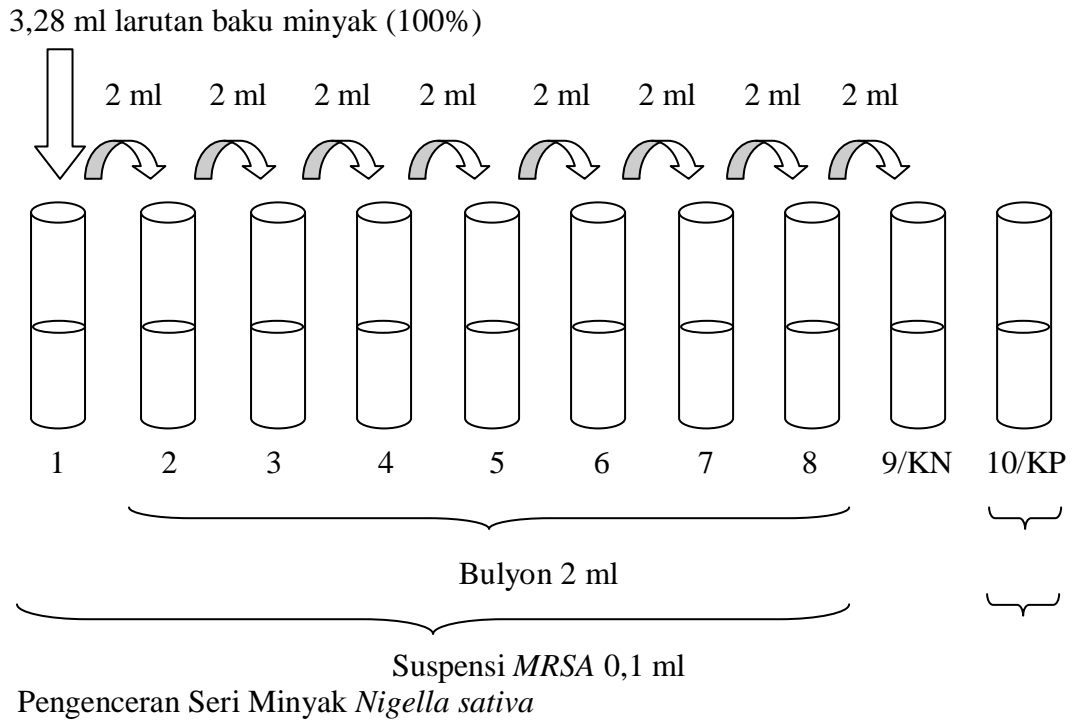
Penentuan konsentrasi hambat minimum terhadap MRSA dilakukan berdasarkan metode pengenceran seri. 4 gram minyak jinten hitam dalam 4 ml PEG, sehingga konsentrasi larutan menjadi 100%, kemudian dimasukkan 3,28 ml larutan tersebut ke dalam tabung reaksi pertama. Tabung reaksi nomor 2-8 dan nomor 10 diisi 2 ml bulyon steril. Kedalam tabung 2 dimasukan larutan jinten hitam dengan konsentrasi 64%, dengan cara mengambil larutan jinten hitam dengan konsentrasi 100% sebanyak 1,28 ml dan ditambahkan pelarut PEG sehingga volumenya menjadi 2 ml, lalu dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 64%. Selanjutnya 2 ml campuran dari tabung 2 dipindahkan ke tabung nomor 3, dikocok sampai homogen sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 32%. Pengenceran ini dilakukan pada tabung

selanjutnya sehingga tercapai konsentrasi 16%, 8%, 4%, 2% dan 1% dalam tabung 4,5,6,7, dan 8. Sisa 2 ml dari tabung 8 dimasukkan ke dalam tabung 9 yang masih kosong sebagai kontrol negatif. Suspensi *MRSA* dibuat dengan kekeruhan sesuai standar Mc Farland 0,5. Ke dalam masing-masing tabung dimasukkan suspensi sebanyak 0,1 ml sampai ke tabung nomor 8, dan tabung nomor 10 yang hanya berisi bulyon steril sebagai kontrol positif.

Semua biakan dalam tabung diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Tabung yang memperlihatkan biakan bening menandakan bahwa bahan uji mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sebaliknya biakan yang keruh memperlihatkan pertumbuhan mikroorganisme uji sebab bahan uji tidak mampu menghambatnya. Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi terkecil bahan uji yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam tabung tersebut.

Tabel 2. Pengenceran Seri Minyak *Nigella sativa* pada uji HKM.

Nomor tabung	Bulyon (ml)	Minyak <i>Nigella sativa</i>	Konsentrasi (%)	Suspensi <i>MRSA</i> setara Mc Farland 0,5 (ml)
1	-	3,28 ml dari larutan baku	100	0,1
2	2	2 ml dari tabung 1	64	0,1
3	2	2 ml dari tabung 2	32	0,1
4	2	2 ml dari tabung 3	16	0,1
5	2	2 ml dari tabung 4	8	0,1
6	2	2 ml dari tabung 5	4	0,1
7	2	2 ml dari tabung 6	2	0,1
8	2	2 ml dari tabung 7	1	0,1
9	-	2 ml dari tabung 8	Kontrol Negatif	-
10	2	-	Kontrol Positif	0,1



Untuk memastikan pertumbuhan mikroorganisme dalam tabung batas

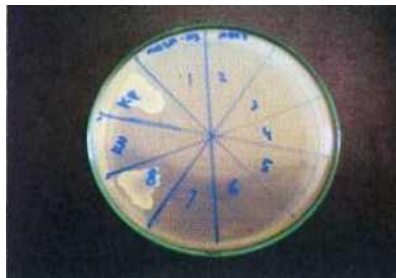
Selanjutnya biakan LAB diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C selama 18-24 jam secara aerob. Daerah yang tidak ditumbuhi koloni *S. aureus* menunjukkan konsentrasi minyak *Nigella sativa* yang mempunyai daya antibakteri. Konsentrasi ekstrak terkecil yang memperlihatkan pertumbuhan *MRSA* paling sedikit merupakan KHM minyak *Nigella sativa*. Masing-masing bakteri uji dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan metode yang sama.

Penentuan waktu kontak disesuaikan dengan KHM yang didapat. Waktu kontak yang digunakan pada penelitiann ini adalah 0,5,1,2,3 sampai 4 menit. Jumlah koloni *MRSA* yang terbentuk pada LAB inilah yang dihitung.

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Penentuan KHM berdasarkan tingkat kekeruhan segtiap tabung, tapi pada penelitian ini tidak terlihat karena larutan minyak jinten ini berwarna kuning keruh. Untuk menentukan KHM maka dilakukan pembiakkan secara sektoral dengan menggunakan LAB. Hasil penanaman secara sektoral didapatkan bahwa pada konsentrasi 1% adalah merupakan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan MRSA.

Pada pengujian waktu kontak didapatkan bahwa sampai 4 menit masih didapatkan pertumbuhan koloni, namun dari setiap waktu kontak terjadi penurunan makin lama jumlah koloni yang tumbuh semakin berkurang. Jumlah koloni terbesar pada konsentrasi 1% pada menit ke 0,5 menit adalah 988 dan terkecil yaitu pada waktu kontak 4 menit adalah 32.



Gambar 4. Pemiakan secara sektoral KHM Habbatussaudah

- | | |
|--------------------------------|---------------------------------|
| 1. Tidak tumbuh bakteri (64 %) | 6. Tidak tumbuh bakteri (2 %) |
| 2. Tidak tumbuh bakteri (32 %) | 7. Tidak tumbuh bakteri (1 %) |
| 3. Tidak tumbuh bakteri (16 %) | 8. Tumbuh bakteri (0,5 %) |
| 4. Tidak tumbuh bakteri (8 %) | 9. Tidak tumbuh bakteri (K (-)) |
| 5. Tidak tumbuh bakteri (4 %) | 10. Tumbuh bakteri (K (+)) |

Tabel 3. Jumlah koloni pada waktu kontak minyak jinten hitam terhadap MRSA

Sampel	Konsentrasi	Jumlah koloni pada waktu kontak				
		0,5'	1'	2'	3'	4'
1		988	762	652	456	232
2		952	772	588	460	136
3		972	832	688	436	88
4		948	756	648	304	108
5		904	804	542	318	32
6		944	836	624	324	92
7		924	740	536	412	216
8		960	840	640	368	168
9		932	712	632	384	184
10	1 %	912	736	504	436	236
11		952	776	560	376	96
12		936	836	616	416	216
13		920	728	592	432	152
14		964	824	636	448	216
15		916	816	552	372	84
16		940	788	588	356	192
17		956	764	652	424	248
18		928	832	576	396	72
19		948	744	640	448	172
20		908	820	628	420	228

Pembahasan

Habbatussaudah (*Nigella Sativa*) yang dikenal di Indonesia sebagai jinten hitam merupakan suatu tanaman tradisional yang memiliki hasiat sebagai tanaman obat. Pada beberapa penelitian yang dilakukan oleh beberapa peneliti ditemukan adanya zat aktif yang terkandung didalamnya mengandung zat aktif yaitu saponin, thymohydroquinone, phenylpropanoid dan aminoglikosida. Saponin ini merupakan gugus glikosida yang termasuk gugus aminoglikosida sedangkan thymohydroquinone termasuk golongan quinone. Efek dari aminoglikosida adalah menghambat sintesis protein.

Secara molekuler proses inhibisi sintesis protein ini berlangsung pada proses translasi. Banyak antibakteri yang bekerja menghambat sub unit 50S maupun 30S

dan ada pula yang bekerja pada tRNA. Golongan aminoglikosida berikatan secara spesifik pada ribosom sub unit 30S , sehingga mengakibatkan sub Unit 50S tidak dapat bergabung dengan sub unit 30S. Antibakteri ini bersifat bakterisida karena akumulasi sub unit 30 S yang berakibat fatal.¹²

Efek antibakteri lainnya adalah thymohydroquinone yang termasuk golongan quinone yang bekerja pada proses replikasi. Enzim yang dipengaruhi oleh golongan quinone ini adalah enzim girase dan topoisomerase IV. Enzim girase ini bekerja menghilangkan super kumparan dari double heliks DNA. hingga menyebabkan lepasnya ikatan dari double heliks DNA, ini terjadi pada proses inisiasi replikasi. Enzim ini terdiri dari 2 sub unit yaitu gyr A dan gyr B. Antibakteri quinolon ini akan mengikat sub unit B yang mengakibatkan DNA girase tidak dapat beraktifitas hingga tidak terjadi relaksasi dari kumparan DNA. sehingga proses replikasi tidak terjadi. dan berakhir dengan kematian bakteri.^{11,12}

Phenylpropanoid merupakan golongan phenol yang mampu mendenaturasi protein membran sel bakteri, dimana komponen zat aktif ini akan melewati membran sel melalui protein transmembran maupun protein porin. Disamping itu fenol ini bersifat lipofilik artinya menyukai molekul lipid yang terdapat pada membran, semakin lipofilik semakin dapat merusak membran sel bakteri sehingga dapat menimbulkan kematian bakteri tersebut.¹³

Pada penentuan waktu kontak hingga 4 menit masih didapatkan adanya koloni MRSA. Hal ini diduga bahwa waktu yang diperlukan untuk menghambat MRSA lebih dari 4 menit. Pada KHM didapatkan pada konsentrasi 1% dan waktu kontak antara MRSA dan Habbatussaudah ini adalah selama 24 jam . Pada keadaan inilah bakteri mati. Pada penelitian diperoleh adanya penurunan jumlah koloni MRSA dari setiap waktu kontak, namun sampai 4 menit masih ditemukan koloni MRSA walaupun terjadi penurunan jumlah koloni MRSA. Penyebab lainnya adalah diduga adanya hambatan masuknya molekul Habbatussaudah ini

kedalam membran sel, dimana molekulnya diduga lebih besar dari diameter protein transmembran maupun porin, hingga dalam hal ini diperlukan transport aktif agar molekul ini mampu menembus pori-pori membran. Agar Habbatussaudah ini dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang mampu menghambat MRSA, sebaiknya penggunaannya secara topikal untuk mengobati suatu infeksi, sehingga obat ini dapat berkontak lebih lama dengan MRSA.

Simpulan

Habbatussaudah ini dapat menghambat pertumbuhan MRSA pada konsentrasi 1% karena zat aktif yang dikandungnya memiliki sifat sebagai antibakteri, sedangkan waktu kontak yang diperlukan harus lebih dari 4 menit. Untuk waktu kontak ini diperlukan penelitian lebih lanjut, hingga dapat ditentukan waktu yang pasti untuk menghambat pertumbuhan MRSA.

Daftar Pustaka

1. Wijayakusuma, H. 2001. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid 2. Jakarta: Pustaka Kartini. Hal 42-44.
2. Muchlisah, Fauziah. 2002. *Tanaman obat keluarga*. Cetakan 11 Jakarta: Penebar Swadaya. h.1-3
3. Ali, BH and Blunden, G. 2003. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella Sativa*. *Phytoter Res.* 17: 299-305.
4. Salman, MT., Khan, RA., Shuka I. 2008. Antibacterial activity of *Nigella Sativa* Linn. seed oil against multidrug resistant bacteria. *Natural Product Radiance*, Vol.7(1), p 10-4
5. Hanafi MS and Hatem ME 1999. Study on the antimicrobial activity of *Nigella Sativa* seed. *J. Ethnopharmacol.* 34:275-278

6. Hassanzadeh MK, Rahimizadeh M, Emmami SA, 2001. Chemical and antibacterial studies of *Phylatus orientalis* oil. *Pharmac Biol.* 39:388-390
7. Tascova R, Mitova M, Duddeck K. 2002. Antibacterial activity and cytotoxicity of *Carthamus lanatus*. *Fitoterapia.* 73 : 540 -3
8. Nickavar B, Mojb F.; Javidnia, K ; Amoli MAR 2003. Chemical composition of the fixed *Nigella Sativa*. *Naturforch.* 58c:629-31
9. Capriotti, T 2004 Preventing Nosokomial Spread Of MRSA in your hand. Diunduh dari : <http://www.medspace.com>. (diakses Maret 2009).
10. Tiemersma, EW. 2004 MRSA in Europa 1999-2002. *E Infectious emerging diseases J.* 10:1267. Diunduh : <http://www.aac.asm.org> (diakses Maret 2009)
11. Russel, AD; Chopra I. 1999 Understanding antibacterial action and resistance. Ellis Horwood. London: p 84-9
12. Lamont RJ; Burne RA; Lantz MS; Leblanc DJ. 2006. *Oral Microbiology and Immunology*, ASM Press. Washington, D.C.: p 385-90
13. Bilal NE, Batouk A., 1996: Antimicrobial effect of *Nigella sativa* on selected microorganism, *Journal of Hepatology, and Gastroenterology infectious diseases* Vol 4, No4, 105:11