

UJI ANTIKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI JINTAN HITAM (*Nigella sativa L.*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* DAN *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) SERTA BIOAUTOGRAFINYA

ANTIBACTERIAL TEST OF BLACK CUMIN EXTRACT AND FRACTION (*Nigella sativa L.*) AGAINST *Klebsiella pneumoniae* AND *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) AND ITS BIOAUTOGRAPHY

Arinaa Manaa Sikanaa¹, Cita Hanif Mufliah^{1*}

¹Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

*E-mail correspondence : chm641@ums.ac.id

Dikirim : 25 Maret 2025, Disetujui : 29 Agustus 2025, Diterbitkan : 30 Agustus 2025

Abstrak

Jintan hitam (*Nigella sativa L.*) adalah salah satu tanaman yang berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi jintan hitam terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Biji jintan hitam diekstraksi dengan etanol 96% hingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion* dengan parameter diameter zona hambat. Kandungan senyawa diuji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak metanol: sikloheksana: diklorometana (6:20:74). Uji bioautografi dilakukan dengan metode bioautografi kontak. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak *Nigella sativa L.* memiliki aktivitas antibakteri paling baik terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah ekstrak dengan konsentrasi 80% v/v (10 µL/disk) dengan diameter zona hambat berturut-turut adalah 11,33 dan 11,5 mm. Hasil uji KLT menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Hasil bioautografi tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

Kata Kunci: antibakteri, *Nigella sativa L.*, *Klebsiella pneumoniae*, MRSA, bioautografi

Abstract

*Black cumin (*Nigella sativa L.*) is a plant that has function as an antibacterial. This study aims to determine the antibacterial activity of extracts and fractions of black cumin against *Klebsiella pneumoniae* and *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Black cumin seeds were extracted with 96% ethanol to obtain liquid extract. Extract was fractionated using n-hexane, ethyl acetate, and water. The antibacterial activity test was carried out using the disc diffusion method with the diameter of the inhibition zone as the parameter. The content of the compounds was tested by thin layer chromatography (TLC) with silica gel GF 254 as stationary phase and methanol: cyclohexane: dichloromethane (6:20:74) as mobile phase. The bioautography test was carried out using the contact bioautography method. The results showed that *Nigella sativa L.* had the best antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* and *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) extracts with a concentration of 80% v/v (10 µL/disc) with an inhibition zone diameter of 11,33 and 11,5 mm respectively. The results of the TLC test showed the*

presence of alkaloids, flavonoids, and tannins. Bioautography results did not show any antibacterial activity.

Keywords: antibacteria, *Nigella sativa* L., *Klebsiella pneumoniae*, MRSA, bioautography

PENDAHULUAN

Infeksi adalah salah satu penyakit yang mengakibatkan banyak kematian di seluruh dunia, termasuk Indonesia (Perdina *et al.*, 2014). Menurut Fikawati (2015), sekitar 83% penyebab kematian di Indonesia adalah infeksi, kelahiran, dan kondisi gizi. Infeksi disebabkan oleh mikroba patogen (Utomo *et al.*, 2018). *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah salah satu penyebab infeksi. *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif yang berasal dari keluarga *Enterobacteriaceae*. *Klebsiella pneumoniae* dapat ditemukan di kulit, mulut, dan saluran pencernaan manusia yang merupakan salah satu penyebab infeksi saluran kemih, abses hati piogenik, dan pneumonia (Bachman *et al.*, 2015). Menurut Budiman (2020), MRSA adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang mempunyai gen *mecA* atau *SCCmec* yang bersifat resisten terhadap methicillin dan beberapa antibiotik beta laktam lainnya yang dapat menyebabkan infeksi kulit, pneumonia, bakterinemia, dan infeksi setelah operasi atau infeksi nosokomial (Widiani & Pinatih, 2020).

Pengobatan infeksi dilakukan dengan terapi antibiotik. Antibiotik adalah senyawa alami ataupun sintesis yang mampu meminimalkan proses biokimiawi pada suatu organisme, seperti pada proses infeksi oleh mikroba (Soleha, 2015). Antibiotik diharapkan dapat mencapai tempat infeksi, masuk ke sel bakteri, dan bekerja mengganggu proses metabolisme bakteri sehingga mematikan bakteri (Amin, 2014). Antibakteri dapat bersifat alami atau sintesis. Antibakteri alami dapat ditemukan pada tumbuhan. Tumbuhan adalah produsen senyawa kimia alamiah yang bermanfaat untuk meningkatkan kesehatan, melawan penyakit, sebagai makanan, dan obat herbal. Senyawa pada tumbuhan telah terbukti bermanfaat bagi kesehatan. Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) merupakan contoh tumbuhan yang bermanfaat sebagai antibakteri.

Nigella sativa L. merupakan tanaman tahunan yang berasal dari Timur Tengah, Afrika Utara, dan Asia Barat, tetapi juga dibudidayakan di berbagai negara. Biji *Nigella sativa* L. digunakan sebagai bumbu masakan. Jintan hitam bermanfaat sebagai obat alami untuk diuretik, diaforis, obat perut, dan tonik hati. Ekstrak *Nigella sativa* L. memiliki efek biologis yang menguntungkan sebagai antibakteri, antidiabetes, antikanker, imunomodulator, analgesik, antiinflamasi, spasmolitik, bronkodilator, hepatoprotektif, antihipertensi, pelindung ginjal, dan antioksidan. Biji jintan hitam mengandung minyak berwarna kekuningan, protein, asam amino, gula pereduksi, alkaloid, asam organik, tanin, lemak, serat kasar, mineral, dan vitamin (Topcagic *et al.*, 2017). Senyawa yang terkandung dalam biji jintan hitam yang berperan sebagai zat antibakteri adalah alkaloid, flavonoid, tanin, dan timokuinon (Wadud, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Wadud (2014) menunjukkan hasil bahwa ekstrak jintan hitam dapat menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dengan metode disc diffusion pada konsentrasi 1%, 1,25%, 1,5%, dan 1,75%. Konsentrasi 1,75% menghasilkan aktivitas antibakteri paling baik dengan diameter zona hambat sebesar 35,66 mm. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi *Nigella sativa* L. terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) untuk mengatasi infeksi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan adalah biji jintan hitam dari toko obat tradisional di Madiun, bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dari Rumah sakit UNS, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, akuades, media brain heart infusion (BHI), media nutrient agar (NA), larutan standar Mac Farland 0,5, dimetilsulfoksida (DMSO), Kloramfenikol, Eritromisin, Ampisilin, cakram uji kosong (*blank disc*), NaCl 0,9%, metanol, sikloheksana, diklormetana, plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), kapas, tisu, aluminium foil, kertas saring.

Alat

Alat yang dibutuhkan : blender, neraca, bejana, mikropipet, ose, autoklaf, *laminar air flow*, inkubator, *shaker*, *vortex*, *glass spreader*, *rotary evaporator*, *waterbath*, *hot plate*.

Langkah Penelitian

Persiapan Serbuk

Biji kering jintan hitam yang diperoleh dari toko obat tradisional di Madiun, dihaluskan dengan blender dan disimpan dalam wadah kedap udara (Vahitha *et al.*, 2018).

Ekstraksi

Serbuk jintan hitam ditimbang sebanyak 1000 g, kemudian dimasukkan ke toples kaca. Setelah itu, ditambahkan 5000 mL etanol 96% dan dimaserasi selama 3x24 jam. Perbandingan ekstrak dan pelarut adalah 1:5 (Diba *et al.*, 2014). Hasil ekstraksi disaring filtratnya dan ditampung dalam botol kaca. Hasil maserasi dikentalkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C selama 2 jam dan *waterbath* pada suhu 50 °C selama 4 jam (Mukhriani *et al.*, 2014).

Fraksinasi Ekstrak

Ekstrak difraksinasi menggunakan 3 pelarut, yaitu n-heksan, etil asetat, dan air (Agustianasari *et al.*, 2016). Caranya dengan melarutkan 10 mL ekstrak dalam 20 mL aquadest pada gelas beaker dan diaduk hingga larut. Larutan tersebut dituangkan ke dalam corong pisah. Pertama, larutan ditambahkan dengan 20 mL n-heksan. Kemudian, digojog dan didiamkan hingga terpisah antara fraksi n-heksan dan fraksi air. Diambil fraksi n-heksan dalam wadah terpisah. Selanjutnya, larutan yang terpisah dari fraksi n-heksan ditambahkan 20 mL etil asetat. Lalu, digojog dan didiamkan hingga terjadi pemisahan antara fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi etil asetat dipindahkan dalam wadah terpisah. Fraksinasi dilakukan dengan dua kali replikasi. Kemudian, ketiga fraksi dikentalkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50 °C selama 2 jam (Hasanah *et al.*, 2017). Total sebanyak 30 mL ekstrak yang difraksinasi.

Sterilisasi

Peralatan yang digunakan, disterilkan dengan cara dicuci bersih menggunakan sabun, lalu dibilas dengan air kran dan terakhir dengan akuades. Peralatan tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 180 °C selama 2 jam (Jamili *et al.*, 2014). Media cair dan tip disterilkan dengan

autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung pada api bunsen (Gustiana *et al.*, 2015).

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Media nutrient agar (NA) dibuat dengan melarutkan 2,8 g nutrient agar (NA) ke dalam 100 mL akuades. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dan didiamkan hingga media cukup dingin. Setelah itu, media nutrient agar cair dituangkan ke 6 cawan petri. Kemudian, media dibiarkan memadat (Paputungan *et al.*, 2019).

Pembuatan Media Brain Heart Infusion (BHI)

Media dibuat dengan melarutkan 1,85 g dalam 50 mL akuades, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Paputungan *et al.*, 2019).

Peremajaan Bakteri

Proses ini dilakukan dengan metode *streak plate*. Bakteri ditanam pada media NA. Isolat bakteri digoreskan pada media NA dan dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Rahmawati *et al.*, 2022).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan adalah *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Tiap bakteri diambil satu ose, disuspensikan dengan larutan BHI 1 mL. Setelah itu, suspensi tersebut dishaker selama 24 jam. Selanjutnya, suspensi bakteri diambil sebanyak 100 µL dan ditambahkan dengan 5 mL larutan NaCl 0,9%. Setelah itu, dilihat perbandingan kekeruhan dengan larutan standar Mc Farland 0,5 (Paputungan *et al.*, 2019).

Uji Sensitivitas Bakteri

Uji sensitivitas bakteri menggunakan beberapa antibiotik yaitu Kloramfenikol, Eritromisin, dan Ampisilin. Sampel bakteri diratakan pada media *nutrient agar*. Selanjutnya, disk antibiotik Kloramfenikol, Eritromisin, dan Ampisilin diletakkan pada media dan dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah itu, diameter zona bening di sekitar disk antibiotik diamati dan diukur untuk menilai uji sensitivitas. Sensitivitas yang paling baik ditunjukkan dengan adanya diameter zona bening terbesar (Hindritiani *et al.*, 2017).

Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak dan fraksi cair, dikentalkan. Hasil tersebut dianggap sebagai konsentrasi 100%. Langkah selanjutnya adalah pembuatan seri konsentrasi dengan menambahkan dimetilsulfoksida (DMSO) pada ekstrak dan fraksi jintan hitam dalam satuan % v/v (Makmun *et al.*, 2020). Larutan uji untuk aktivitas antibakteri ekstrak jintan hitam dilakukan dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% v/v. Sedangkan, larutan uji untuk aktivitas antibakteri fraksi jintan hitam dilakukan dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% v/v.

Uji Aktivitas Antibakteri

Prosedur dilakukan dengan memasukkan 200 μL suspensi bakteri ke media *nutrient agar* dengan mikropipet. Kemudian, suspensi bakteri diratakan dengan spreader dan didiamkan selama 5 menit. Disk diletakkan ke dalam cawan petri menggunakan pinset. Setelah itu, setiap bagian kertas cakram ditetes 10 μL larutan ekstrak jintan hitam dengan konsentrasi yang diinginkan menggunakan mikropipet dan direplikasi 3 kali dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Nurhayati & Yanti, 2022).

Diameter zona bening diamati setelah 1 hari inkubasi. Diameter zona bening diukur menggunakan penggaris, yaitu dengan menambahkan diameter zona bening horizontal dan diameter zona bening vertikal kemudian dibagi dua (Paputungan *et al.*, 2019).

Uji KLT

Uji fitokimia dilakukan dengan kromatografi lapis tipis, yaitu menotolkan sampel di fase diam berupa silika gel F₂₅₄. Kemudian, plat KLT dielusi, diangin-anginkan, dan diamati bercak noda pada sinar tampak, UV 254 nm, UV 366 nm, dan reagen semprot (Mardianingsih & Ismiyati, 2014).

Uji alkaloid dilakukan dengan reagen semprot Dragendorff dan hasil positif ditandai dengan warna noda oranye (Paputungan *et al.*, 2019). Uji flavonoid dilakukan dengan reagen semprot sitroborat dan hasil positif ditandai dengan munculnya bercak berfluoresensi kuning kehijauan pada UV 366. Uji tanin dilakukan dengan reagen semprot FeCl₃ dan hasil positif menunjukkan warna gelap (Lestari & Santoso, 2021).

Uji Bioautografi

Prosedur diawali dengan persiapan plat KLT. Plat KLT diaktifkan dengan cara dipanaskan di oven pada suhu 105 °C selama 10 menit untuk menghilangkan kadar air pada plat KLT (Paputungan *et al.*, 2019). Plat KLT sebagai fase diam yang digunakan adalah ukuran 1,5 x 6,5 cm dengan batas bawah 1 cm dan batas atas 0,5 cm.

Fase gerak yang digunakan dalam penelitian adalah metanol, sikloheksana, dan diklorometana (6:20:74) (Samarakoon *et al.*, 2020). Pelarut dimasukkan ke *chamber*, ditutup rapat, dan dijenuhkan menggunakan kertas saring. Setelah itu dilakukan penotolan pada plat KLT. Ekstrak jintan hitam ditotolkan menggunakan pipa kapiler dengan jarak 1 cm dari batas bawah plat dan ditunggu naik sampai batas atas. Setelah itu, plat diamati di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm (Paputungan *et al.*, 2019).

Langkah selanjutnya adalah memasukkan 200 μL suspensi bakteri ke cawan petri steril yang berisi media *nutrient agar* dengan mikropipet. Suspensi bakteri diratakan dengan spreader dan didiamkan sejenak (Nurhayati & Yanti, 2022). Plat KLT yang telah dielusi ditempelkan pada media. Plat KLT didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya, plat KLT diangkat dari media dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Paputungan *et al.*, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan satu atau lebih senyawa kimia dalam suatu sampel dengan pelarutnya. Tujuan ekstraksi adalah menarik senyawa kimia dalam bahan alam

menggunakan pelarut tertentu (Nasyanka *et al.*, 2020). Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi adalah proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai untuk menarik senyawa aktif yang terkandung tanpa adanya proses pemanasan (Suharto *et al.*, 2016). Alasan dipilihnya metode maserasi adalah proses yang dilakukan pada suhu kamar dapat meminimalisasi kerusakan senyawa yang terkandung di dalamnya. Etanol 96% dipilih karena pelarut dapat menarik senyawa lebih maksimal (Depkes RI, 2017). Ekstrak yang dihasilkan berupa ekstrak cair karena biji jintan hitam mengandung minyak (Topcagic *et al.*, 2017). Rendemen yang dihasilkan pada proses ekstraksi adalah 42,690%.

Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen penyusun ekstrak yang didasarkan pada tingkat kepolaran (Firdaus *et al.*, 2013). Pada penelitian ini, fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair, yaitu pemisahan senyawa menggunakan dua cairan pelarut yang tidak saling bercampur (Supomo *et al.*, 2021). Fraksinasi dilakukan menggunakan 3 pelarut yang berbeda, yaitu n-heksan, etil asetat, dan air. Rendemen yang dihasilkan masing-masing pelarut (n-heksan, etil asetat, dan air) berturut-turut adalah 9,518%; 9,523%, dan 9,463%.

Uji Sensitivitas Bakteri

Uji sensitivitas merupakan metode untuk menetapkan tingkat kerentanan suatu bakteri terhadap antibakteri atau mengetahui kemampuan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Soleha, 2015). Hasil uji sensitivitas paling baik ditunjukkan dengan besarnya diameter zona hambat yang terbentuk. Uji sensitivitas dilakukan menggunakan antibiotik Kloramfenikol 30 µg, Eritromisin 15 µg, dan Ampisilin 15 µg. Disk antibiotik mempunyai diameter 6 mm. Hasil uji sensitivitas bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) terhadap antibiotik Kloramfenikol 30 µg, Eritromisin 15 µg, dan Ampisilin 15 µg disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji sensitivitas bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bakteri	Replikasi	Jenis Antibiotik		
		Kloramfenikol 30 µg (mm)	Eritromisin 15 µg (mm)	Ampisilin 15 µg (mm)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	17 (I)	14 (I)	6 (R)
	2	18 (S)	14 (I)	6 (R)
	3	19 (S)	14 (I)	7 (R)
	Rata-rata	18 (S)	14 (I)	6,33 (R)
MRSA	1	23 (S)	12 (R)	9 (R)
	2	19 (S)	13 (R)	9 (R)
	3	21 (S)	13 (R)	8 (R)
	Rata-rata	21 (S)	12,67 (R)	8,67 (R)

Keterangan: R = resisten, I = intermediet, S = sensitif (NCCLS, 2005)

Berdasarkan hasil uji sensitivitas bakteri, *Klebsiella pneumoniae* sensitif terhadap Kloramfenikol, intermediet terhadap Eritromisin, dan resisten terhadap Ampisilin. *Methicillin*

Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) sensitif terhadap Kloramfenikol, resisten terhadap Eritromisin dan Ampisilin. Kedua bakteri menunjukkan hasil sensitif terhadap Kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yaitu dapat membunuh bakteri Gram positif dan negatif. Mekanisme aksi Kloramfenikol adalah berikatan dengan subunit 50S ribosom bakteri, menghalangi pengikatan asam amino sehingga menghentikan sintesis protein (Dian et al., 2015).

Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan adalah metode *disc diffusion*. Metode *disc diffusion* memiliki beberapa kelebihan seperti kemudahan mengenali biakan, efisiensi waktu, biaya yang relatif murah, fleksibilitas yang lebih besar, dan kemudahan menafsirkan hasil. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi jintan hitam terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) disajikan pada Tabel 2, 3, 4, dan 5.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bakteri	Replikasi	Diameter zona hambat* (mm)				
		20%	Ekstrak jintan hitam 40%	60%	80%	Kloramfenikol
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	8,5	9,5	11	12	20,5
	2	9	10	10	11	19
	3	9	10	10	11	20
	Rata-rata ± SD	8,83 ± 0,28	9,83 ± 0,28	10,33 ± 0,57	11,33 ± 0,57	19,83 ± 0,76 0 ± 0
MRSA	1	8,5	10	12	12,5	23,5
	2	10	10,5	10	11	22
	3	10	10	10	11	23
	Rata-rata ± SD	9,50 ± 0,86	10,17 ± 0,28	10,67 ± 1,15	11,50 ± 0,86	22,83 ± 0,76 0 ± 0

*Diameter zona hambat tidak termasuk diameter disk 6 mm

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bakteri	Replikasi	Diameter zona hambat* (mm)			Kloramfenikol
		20%	Fraksi n-heksan 40%	60%	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	0	0	19
	2	0	0	0	20
	3	0	0	0	20
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	19,67 ± 0,57735 0 ± 0
MRSA	1	0	0	0	22
	2	0	0	0	23
	3	0	0	0	22
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	22,33 ± 0,57735 0 ± 0

*Diameter zona hambat tidak termasuk diameter disk 6 mm

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bakteri	Replikasi				Diameter zona hambat (mm)	DMSO
		Fraksi etil asetat 20%	40%	60%	Kloramfenikol	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	0	0	20	0
	2	0	0	0	20	0
	3	0	0	0	20	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	20 ± 0	0 ± 0
MRSA	1	0	0	0	23	0
	2	0	0	0	23	0
	3	0	0	0	22	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	22,67 ± 0,57735	0 ± 0

*Diameter zona hambat tidak termasuk diameter disk 6 mm

Ekstrak jintan hitam memiliki aktivitas antibakteri pada *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Pada *Klebsiella pneumoniae*, ekstrak jintan hitam dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% menghambat pertumbuhan bakteri berturut-turut dengan rata-rata 8,83 mm, 9,83 mm, 10,33 mm, dan 11,33 mm. Rata-rata diameter zona hambat pemberian kloramfenikol pada *Klebsiella pneumoniae* sebesar 19,83 mm, sedangkan DMSO sebesar 0 mm. Pada MRSA, ekstrak jintan hitam dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% menghambat pertumbuhan bakteri berturut-turut dengan rata-rata 9,5 mm, 10,17 mm, 10,67 mm, dan 11,5 mm. Rata-rata diameter zona hambat pemberian kloramfenikol pada bakteri MRSA sebesar 22,83 mm, sedangkan DMSO sebesar 0 mm. Hal tersebut menunjukkan ekstrak jintan hitam dengan konsentrasi 80% memiliki aktivitas antibakteri terbaik.

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi air terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bakteri	Replikasi	Diameter zona hambat (mm)				DMSO
		20%	Fraksi air 40%	60%	Kloramfenikol	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	0	0	19	0
	2	0	0	0	19	0
	3	0	0	0	20	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	19,33 ± 0,57735	0 ± 0
MRSA	1	0	0	0	23	0
	2	0	0	0	22	0
	3	0	0	0	23	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	22,67 ± 0,57735	0 ± 0

*Diameter zona hambat tidak termasuk diameter disk 6 mm

Hasil uji *Klebsiella pneumoniae* dan MRSA, data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen yang ditunjukkan dengan $p<0,05$. Uji dilakukan dengan Kruskal-Wallis. Hasil uji

Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p<0,05$ yang berarti ada perbedaan signifikan. Hasil signifikan berarti perbedaan zona hambat disebabkan oleh perlakuan ekstrak. Hasil bakteri *Klebsiella pneumoniae*, kelompok yang memiliki perbedaan signifikan adalah DMSO-konsentrasi 60%, DMSO-konsentrasi 80%, DMSO-kloramfenikol, konsentrasi 20%-konsentrasi 80%, dan konsentrasi 20%-kloramfenikol. Hasil uji bakteri MRSA, kelompok yang memiliki perbedaan signifikan : DMSO-konsentrasi 80%, DMSO-kloramfenikol, dan konsentrasi 20%-kloramfenikol. Hasil signifikan berarti perbedaan zona hambat terjadi karena perbedaan konsentrasi.

Hasil penelitian sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wadud (2024) yang memperoleh hasil perbedaan konsentrasi ekstrak jintan hitam berpengaruh pada pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Pada konsentrasi 1%, 1,25%, 1,5%, dan 1,75% dapat memberikan aktivitas antibakteri. Konsentrasi 1,75% menghasilkan aktivitas antibakteri paling baik dengan diameter zona hambat sebesar 35,66 mm. Berdasarkan hasil yang diperoleh, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan semakin besar juga diameter zona hambat yang dihasilkan yang berarti ekstrak aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Penelitian lain yang menggunakan ekstrak jintan hitam adalah Rahman (2014) terkait uji efektivitas ekstrak jintan hitam terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Hasil menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak jintan hitam dengan konsentrasi 15 mg/mL, 30 mg/mL, 60 mg/mL, dan 120 mg/mL. Rata-rata diameter zona hambat terkecil dihasilkan oleh konsentrasi 15 mg/mL sebesar 6,33 mm, sedangkan rata-rata diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 120 mg/mL sebesar 21,67 mm. Konsentrasi yang semakin tinggi memberikan aktivitas antibakteri lebih baik karena kandungan zat aktif yang lebih tinggi.

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi jintan hitam, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air tidak memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan MRSA, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% tidak menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan diameter zona hambat sebesar 0 mm. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena kurang aktifnya fraksi yang disebabkan adanya pemisahan dalam fraksinasi. Komponen senyawa akan menghambat pertumbuhan bakteri apabila bersinergi menjadi satu komponen senyawa. Tetapi, apabila komponen terpisah-pisah maka tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Agustianasari *et al.*, (2016). Hasil penelitian tersebut, uji aktivitas fraksi jintan diujikan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Pelarut yang digunakan adalah n-heksan, etil asetat, dan air di mana berturut-turut bersifat non polar, semi polar, dan polar. Fraksi yang dihasilkan adalah fraksi n-heksan, etil asetat, dan air. Fraksi n-heksan dengan konsentrasi 2% menghasilkan diameter zona hambat pada *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* berturut-turut sebesar 12,43 mm dan 14,68 mm. Fraksi etil asetat dengan konsentrasi 2% menghasilkan diameter zona hambat pada *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* berturut-turut sebesar 16,74 mm dan 18,08 mm. Fraksi air dengan konsentrasi 2% menghasilkan diameter zona hambat pada *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* berturut-turut sebesar 18,88 mm dan 11,04 mm. Bakteri *Bacillus subtilis*, fraksi teraktif adalah fraksi air. Bakteri *Escherichia coli*, fraksi teraktif adalah fraksi etil asetat. Jintan hitam mengandung flavonoid yang bersifat semipolar tersari pada pelarut etil

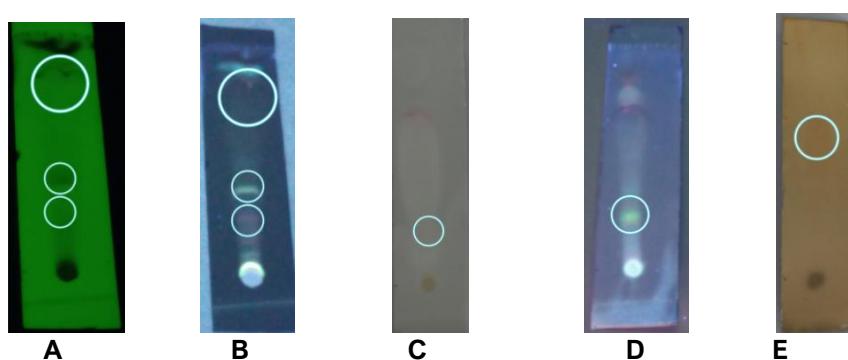
asetat. Flavonoid bekerja dengan menyerang gugus fosfat di membran sitoplasma yang menyebabkan membran rusak (Saputra & Anggraini, 2016).

Uji KLT

Uji KLT adalah proses pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorbsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam dan fase gerak. Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan jarak yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya. Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya pemisahan komponen-komponen kimia di dalam ekstrak. Uji KLT dilakukan dengan menotolkan sampel di fase diam berupa silika gel F₂₅₄. Kemudian, plat KLT dielusi, diangin-anginkan, dan diamati bercak noda pada sinar tampak, UV 254 nm, UV 366 nm, dan pereaksi semprot (Mardiyaniingsih & Ismiyati, 2014).

Tabel 6. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*)

Rf	Sebelum Penyemprotan		Setelah Penyemprotan		Keterangan	
			Pereaksi Dragendorff	Pereaksi Sitroborat		
	UV 254 nm	UV 366 nm	Sinar Tampak	UV 366 nm	Pereaksi FeCl ₃	
0,14	Hitam	Kuning	Kuning	-	-	Alkaloid
0,18	Hitam	Hijau	-	Kuning kehijauan	-	Flavonoid
0,74	Hitam	Coklat	-	-	Coklat tua	Tanin



Gambar 1. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) (A) UV 254 nm, (B) UV 366 nm, (C) Dragendorff - sinar tampak sebagai deteksi alkaloid, (D) Sitroborat - UV 366 nm sebagai deteksi flavonoid, dan (E) FeCl₃ - sinar tampak sebagai deteksi tanin

Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan pereaksi semprot Dragendorff dan hasil positif menunjukkan warna oranye. Senyawa flavonoid diidentifikasi dengan pereaksi semprot sitroborat dan hasil positif ditandai dengan munculnya noda berfluoresensi kuning kehijauan pada UV 366. Senyawa tanin diidentifikasi dengan pereaksi semprot FeCl₃ dan hasil positif menunjukkan warna gelap (hitam, ungu, biru tua, coklat tua) (Lestari & Santoso, 2021). Hasil uji alkaloid, flavonoid, dan tanin dihasilkan Rf berturut-turut adalah 0,14, 0,18, dan 0,74.

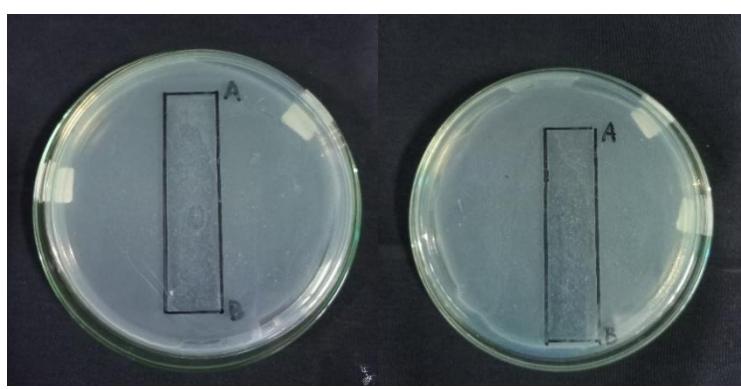
Pereaksi semprot berfungsi untuk mendeteksi golongan senyawa pada bercak (Dewi & Wahyono, 2015). Pada pengamatan menggunakan sinar UV 254 nm, lempeng berfluoresensi sedangkan sampel berwarna gelap. Pada pengamatan menggunakan sinar UV 366 nm, bercak noda berfluoresensi dengan latar belakang gelap, sehingga bercak noda dapat berfluoresensi.

Fluoresensi dapat terjadi karena sinar UV berinteraksi dengan gugus kromofor yang terikat oleh aiksokrom pada bercak noda (Karima *et al.*, 2021).

Uji Bioautografi

Uji bioautografi bertujuan untuk mengetahui komponen kimia yang memberikan aktivitas antibakteri dari ekstrak jintan hitam (Paputungan *et al.*, 2019). Metode yang digunakan adalah bioautografi kontak, yaitu dengan menempelkan plat KLT di atas media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Pada hasil uji bioautografi, tidak ada zona hambat yang terbentuk. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena kurang aktifnya ekstrak yang disebabkan adanya pemisahan dalam fraksinasi. Komponen senyawa akan menghambat pertumbuhan bakteri apabila bersinergi menjadi satu komponen senyawa. Tetapi, apabila komponen terpisah-pisah maka tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri.

Ada kemungkinan lain yang dapat menyebabkan hal itu terjadi, yaitu metode bioautografi kontak kurang baik dalam hal penyerapan dan kesulitan untuk mendapatkan kontak yang optimal sehingga menyebabkan matriks plat menempel pada media ketika diangkat kembali. Beberapa senyawa dapat berinteraksi dengan matriks sehingga senyawa aktif kurang berdifusi pada media sehingga tidak terbentuk zona hambat (Pakata, 2013).



Gambar 2. Hasil uji bioautografi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap bakteri (A) *Klebsiella pneumoniae* dan (B) *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak jintan hitam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Sedangkan, fraksi jintan hitam tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Hasil uji bioautografi, ekstrak jintan hitam tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Saran yang diberikan adalah perlunya penelitian lebih lanjut terkait uji aktivitas antibakteri fraksi jintan hitam dan uji bioautografinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustianasari, I., Mulqie, L., dan Choesrina, R. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap bakteri *Bacillus Subtilis* dan *Escherichia coli*. *Prosiding Farmasi*, 2(2), 682–690.
- Amin, L.Z. (2014). Pemilihan antibiotik yang rasional. *Medicinus*, 27 (3), 40–45.
- Bachman, M.A., Breen, P., Deornellas, V., Mu, Q., Zhao, L., Wu, W., et al. (2015). Genome-Wide identification of *Klebsiella pneumoniae* fitness genes during lung infection. *mBio*, 6(3), 1–9. doi: 10.1128/mBio.00775-15.
- Budiman. (2020). Prevalensi kolonisasi bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di ruang *Intensive Care Unit* (ICU) rumah sakit umum daerah Abdul Moeloek Bandar Lampung. *Majority*, 9(1), 19–23.
- Departemen Kesehatan RI, 2017, *Farmakope Herbal Indonesia*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Dewi, P.E.N., dan Wahyono, W. (2015). Isolasi dan identifikasi senyawa penanda dari daun Jakang (*Muehlenbeckia platycalda* MEISSN), *Pharmacy*, 12 (2), 186–196.
- Dian, R., Fatimawali, dan Budiarto, F. (2015). Uji resistensi bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari plak gigi terhadap merkuri dan antibiotik kloramfenikol, *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 3 (1), 59–63.
- Diba, R.F., Yasni, S., dan Yuliani, S. (2014). Nanoemulsifikasi spontan ekstrak jintan hitam dan karakteristik produk enkapsulasinya. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 25 (2), 134–139.
- Fikawati, S. (2017). *Gizi anak dan remaja*. Rajawali Pers, Depok.
- Firdaus, M., Prihanto, A.A., dan Nurdiani, R. (2013). *Tanaman bakau biologi dan bioaktivitas*, UB Press Malang.
- Gustiana, G., Rantetondok, A., dan Zainuddin, E.N. (2015). Efektivitas ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* Linn.) terhadap infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Linn.). *Torani (Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan)*, 25 (1), 26–31. DOI: <https://doi.org/10.35911/torani.v25i1.258>
- Hasanah, M., Maharani, B., dan Munarsih, E. (2017). Daya antioksidan ekstrak dan fraksi kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap pereaksi DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil). *IJPST*, 4 (2), 42–49. DOI: <https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.10456>
- Hindritiani, R., Soedarwoto, A., Ruchiatan, K., Suwarsa, O., Budiarti, M.U., Husadani, D., dan Pranata, A.Y. (2017). Resistensi antibiotik *Propionibacterium acnes* dari berbagai lesi kulit akne vulgaris di rumah sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung, MDVI, 44 (1), 15–19.
- Jamili, M.A., Hidayat, M.N., dan Hifizah, A. (2014). Uji daya hambat ramuan herbal terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *JIIP*, 1 (3), 227–239.
- Karima, N., Pratiwi, L., dan Apridamayanti, P. (2021). Identifikasi senyawa kuersetin ekstrak etil asetat daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura*, 1–5.
- Lestari, S.I. dan Santoso, B. (2021). Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan aktivitas penangkapan radikal bebas (PRB) ekstrak etanol lempuyang emprit (*Zingiber americans*) hasil maserasi sekali

dan maserasi berulang. *Biomedika*, 13(1), 76–82.

Makmun, Armanto, Surdam, Zulfiah, Gunawan, dan Mufida, A. (2020). Uji efektivitas ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada medium MHA (Mueller Hinton Agar). *Jurnal Kesehatan*, 3 (1), 1–9.

Mardianingsih, A. dan Ismiyati, N., (2014). Aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik daun alpukat (*Persea americana* Mill.) pada sel kanker leher rahim HeLa. *Traditional Medicine Journal*, 19 (1), 24–28.

Mukhriani, Nonci, F.Y., dan Mumang. (2014). Penetapan kadar tanin total ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) secara spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makasar*, 2 (4), 154–158.

Nasyanka, A.L., Nai'mah, J., dan Aulia, R. (2020). *Pengantar fitokimia*. Qiara Media, Pasuruan.

Nurhayati, N. dan Yanti, D. (2022). Identifikasi senyawa anti mikroba ekstrak etanol batang brotowali (*Tinospora crispa* (L.) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus substillis*, dan *Candida albicans* dengan metode KLT bioautografi. *Jurnal Ayurveda Medistra*, 4, 26–33.

Pakata, I.F. (2013). Uji aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi aktif buah cabai katokkan (*Capsicum annum* L. var. *chinensis*) secara KLT-bioautografi. *Skripsi*, Prodi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makasar.

Paputungan, W.A., Lolo, W.A., dan Siampa, J.P. (2019). Aktivitas antibakteri dan analisis KLT-bioautografi dari fraksi biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). *Pharmacon*, 8(3), 516–524. DOI: <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29325>.

Perdina, N., Saptarini, O., dan Rafiqua, N. (2014). Aktivitas antimikroba fraksi ekstrak etanol buah pinang (*Areca catechu* L) pada bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *Majalah Kedokteran Bandung*, 46 (2), 94–99. DOI: 10.15395/mkb.v46n2.280.

Rahman, M.A. (2014). Uji efektivitas ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta.

Rahmawati, R., Mukarlina, M., dan Engda, E.P. (2020). Aktivitas antibakteri yoghurt dengan penambahan madu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi*, 21 (1), 12–18. DOI: <https://doi.org/10.33508/jtpg.v21i1.3366>.

Samarakoon, S.R., Thabrew, I., Galhena, P.B., Silva, D.D., Tennekoon, K.H., (2020). A comparison of the cytotoxic potential of standardized aqueous and ethanolic extracts of a polyherbal mixture comprised of *Nigella sativa* (Seeds), *Hemidesmus indicus* (Root) and *Smilax glabra* (Rhizome). *Pharmacognosy Research*, 2 (6), 335–342.

Saputra, O. dan Anggraini, N. (2016). Khasiat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap penyembuhan *Acne vulgaris*. *Majority*, 5(1), 76–80.

Soleha, T.U. (2015). Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Juke Unila*, 5 (9), 119–123.

Suharto, M.A.P., Edi, H.J., dan Dumanauw, J.M. (2016). Isolasi dan identifikasi senyawa saponin dari ekstrak metanol batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *Jurnal Sains*, 3(1) 86–92. DOI: <https://doi.org/10.35799/pha.1.2012.914>.

Supomo, Sa'adah, H., Syamsul, E.S., Kintoko, Witasari, H.A., dan Noorcahyati. (2021). *Khasiat tumbuhan akar kuning berbasis bukti*, Nas Media Pustaka, Yogyakarta.

- Topcagic, A., Zeljkovic, S. C., Karalija, E., Galijasevic, S., dan Sofic, E. (2017). Evaluation of phenolic profile, enzyme inhibitory and antimicrobial activities of *Nigella sativa* L. seed extracts. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 17 (4), 286–294.
- Utomo, S.B., Fujiyanti, M., Lestari, W.P., dan Mulyani, S. (2018). Uji aktivitas antibakteri senyawa C-4-Metoksifenilkaliks[4]Resorsinarena termodifikasi hexadecyltrimethylammonium-bromide terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 3 (3), 201–209.
- Vahitha, V., Karim, R., Perinbam, K., Hossain S.M.J., dan Basha, K. (2018). Demonstration of antioxidant, antibacterial and antifungal property of *Nigella sativa* Seed Extract. *East African Scholars Journal of Agriculture and Life Sciences*, 1(3), 2617–4472.
- Wadud, S.A. (2014). Uji efektivitas ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Skripsi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta.
- Widiani, P.I. dan Pinatih, K.J.P. (2020). Uji daya hambat ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Medika Udayana*, 9 (3), 22–28.