

DAYA HAMBAT EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans*

Siti Maryam Istiqomah¹, Agus Aulung², Luh Eka Purwani³

1,3) Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta

2) Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

ABSTRAK

Penyakit infeksi oleh *Candida sp* disebut kandidiasis dan spesies candida yang paling sering menyebabkan kandidiasis adalah *Candida albicans*. Beberapa obat yang digunakan untuk mengobati infeksi oleh jamur memiliki efek samping, salah satunya adalah gangguan gastrointestinal. Telah dilakukan penelitian daya hambat ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* Linn) terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan metoda difusi secara invitro menggunakan sabouraud dextrose agar. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui daya hambat ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Hasil penelitian memperlihatkan ekstrak biji jintan hitam mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Ekstrak biji jintan hitam pada beberapa konsentrasi (100%, 80%, 60%, 40%, 20% dan 10%) memperlihatkan rata-rata daya hambat 9,00, 4,83, 4,83, 2,87, 2,49 dan 0,19 mm. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji alternatif dan didapatkan $p < 0,05$, maka dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Disimpulkan bahwa ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* secara in-vitro

Kata Kunci : Ekstrak, biji jintan hitam, *Candida albicans*, metode difusi.

ABSTRACT

Infectious disease caused by candida is called Candidiasis and the species that mostly causes candidiasis is *Candida albicans*. Some fungal drugs have side effects that evoke discomfort, such as gastrointestinal disorder. Black cumin seed is traditional medicine that contains thymoquinone as the main ingredient that acts as an antifungal. This study was designed to study the antifungal inhibition activity of black cumin seed (*N. sativa* Linn) extract against *C. albicans* growth. This study used an experimental laboratory with the In Vitro Diffusion Method in Sabouraud Dextrose Agar in order to observe and measure growth inhibition. Black cumin seed (*N. sativa* Linn) extract was obtained from Research Institute for Medicinal and Aromatic Plants (BALITRO) Bogor. The study showed that growth inhibition by the following concentration 100, 80, 60, 40, 20, and 10% with the mean of inhibition activity were 9.00, 4.83, 2.87, 2.49, and 0.19 mm. The data were analyzed by using alternative test and showed the probability score value of $p < 0.05$. It was concluded that black cumin seed (*N. sativa* Linn) extract had inhibition activity against *C. albicans* growth in vitro.

Key words: Extract, Black cumin seed, *Candida albicans*, diffusion method

PENDAHULUAN

Candida spesies adalah organisme komensal yang banyak dijumpai dalam mukosa (rongga mulut, saluran gastro-intestinal, dan vagina) sebagai bagian dari flora normal dan jumlahnya mencapai 71% pada populasi individu sehat (Sotya P, Erni S, Satiti RP, 2010). Anggota genus *Candida*, *Candida albicans* merupakan spesies yang bersifat paling patogen pada manusia. *C. albicans* dapat menyebabkan infeksi pada mukosa (oral dan vagina) sampai kandidosis diseminata yang mengancam jiwa pada individu imunokompromais (Windi AN, 2013). Kandidosis vaginalis merupakan salah satu penyebab utama dari keputihan dan menyebabkan keluhan utama bagi wanita yang mengganggu keharmonisan rumah tangga. Keluhan lainnya adalah rasa gatal dan terbakar dan keadaan ini merupakan salah satu alasan pasien berkonsultasi ke dokter (Kuswaji, 2006).

Beberapa obat yang digunakan untuk mengobati penyakit infeksi jamur memiliki efek samping yang menimbulkan ketidaknyamanan, salah satunya adalah gangguan gastrointestinal, seperti mual dan muntah, Obat tersebut juga dapat meningkatkan aktivitas enzim untuk sementara waktu dan terkadang dapat menimbulkan kerusakan hati (Setiabudi R, 2007). Berbagai efek samping yang ditimbulkan mengindikasikan perlunya dilakukan pengembangan yang lebih baik terhadap penanganan infeksi jamur (Setiabudi R, 2007).

Tanaman Jintan hitam (*Nigella sativa* Lin) yang biasa disebut Habbatus Al-Sauda dalam bahasa Arab sudah digunakan sejak 2000 tahun yang lalu sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit, termasuk infeksi kulit. Jintan hitam (*N. sativa* Lin) dapat juga digunakan sebagai bahan tambahan untuk hidangan roti, bumbu penyedap, pengawet rempah-rempah, dan makanan (Aktar N, 2013 ; Abu-Al-Basal MA, 2009).

Kandungan thymoquinone biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) memiliki efek anti-fungal terhadap banyak spesies dari dermatofit dengan cara menghambat germinasi konidia (Sastroasmoro B, 2008 ; Mitchell GT, 2008).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta pada bulan April 2013 sampai dengan bulan Juli 2013. Rancangan penelitian ialah eksperimental laboratorium. Penelitian dilakukan secara *invitro* dengan metode difusi menggunakan kertas cakram dan media pertumbuhan jamur sabouraud dextrose agar. Subjek penelitian ini adalah koloni *C. albicans* yang diperoleh dari Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Sampel penelitian adalah ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) yang didapatkan dari BALITRO (Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik) dengan konsentrasi (10, 20, 40, 60, 80, dan 100%).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan uji akhir hanya untuk kelompok perlakuan (Post Test Only Control Group Design), yaitu pengujian hanya dilakukan setelah perlakuan (Notoadmojo S, 2010). Besar pengulangan dari tiap kelompok perlakuan ditentukan dengan rumus Federer (Mahmudah TR, 2010).

Pembuatan larutan pereaksi, yaitu suspensi standar 0,5 McFarland sebanyak 0,05 ml BaCl₂ 1% dicampur dengan 9,95 ml H₂S₀₄ 1% dihomogenkan dalam tabung reaksi. Suspensi 0,5 McFarland merupakan suspensi standar yang menunjukkan kekeruhan jamur sama dengan 10⁸ CFU/ml (Hudzicki J, 2011). Kertas cakram direndam dalam larutan konsentrasi ekstrak yang telah ditentukan selama 60 menit lalu ditempatkan pada permukaan medium padat SDA yang sebelumnya telah diinokulasikan jamur (*C. albicans*) pada permukaannya. Setelah diinkubasi selama 48 jam, diukur diameter zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram untuk mengukur efektivitas daya hambat terhadap jamur uji pada hari ke-2 inkubasi. Daya hambat ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) dinilai pada konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80, dan 100 % dapat dilihat dari terbentuknya zona hambat berupa area bening di sekitar kertas cakram yang diukur dengan menggunakan jangka sorong digital.

Hasil pengukuran yang diperoleh diuji

dengan menggunakan uji *anova-one-way*. tetapi jika terdapat $p < 0,05$ kemudian dilakukan uji Post-Hoc untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak biji jintan hitam (*N.sativa* Linn) terhadap pertumbuhan *C. albicans* disajikan pada Tabel1. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) memiliki daya hambat sebagai antifungi terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Kelompok kontrol tidak terbentuk zona hambat, yang artinya bahwa kelompok tersebut tidak memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan *C. Albicans*, sedangkan pada kelompok ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn)

memperlihatkan adanya zona hambat. Hambatan mulai terbentuk pada larutan ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) dengan konsentrasi 10% (0,19 mm) dan diameter bertambah sesuai dengan penambahan konsentrasi ekstrak yang diuji. Hasil percobaan menunjukkan terdapat zona hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Rata-rata zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) pada konsentrasi 100% adalah 9.00 mm dan merupakan daya hambat terbesar pada kelompok tersebut. Pada konsentrasi 80, 60, 40, 20, dan 10% masing-masing memberikan rata-rata zona hambat sebesar 4,33, 3,83, 2,87, 2,49, dan 0,19 mm. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka daya hambat yang dihasilkan semakin besar.

Tabel 1. Zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) terhadap pertumbuhan *C.albicans*

Ulangan	Kontrol	Konsentrasi ekstrak biji jintan					
		10%	20%	40%	60%	80%	100%
1	0	0,25	2,51	2,92	4,16	2,57	9,92
2	0	0,19	2,45	2,81	3,80	5,12	8,86
3	0	0,20	2,49	2,95	3,67	4,98	8,38
4	0	0,15	2,52	2,83	3,70	4,66	9,17
Total	0	0,79	9,97	11,51	15,33	17,33	36,03
Rata-rata		0,19	2,49	2,87	3,83	4,33	9,00

Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah *one-way anova*. Hasil uji normalitas saphiro-wilk didapatkan bahwa setiap konsentrasi

memiliki signifikansi $> 0,05$, artinya semua kelompok data berdistribusi normal.

Tabel 2. Hasil Saphiro-wilk zona hambat ekstrak biji jintan hitam terhadap pertumbuhan *C. albicans*

Konsentrasi	Uji Saphiro-wilk (sig)
10 %	0,88
20 %	0,53
40 %	0,38
60 %	0,14
80 %	0,51
100 %	0,99

Pengujian daya hambat antifungi ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) terhadap pertumbuhan *C. Albicans* pada konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80, dan 100% dengan pengulangan 4 kali, berdasarkan Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan hasil perlakuan antara ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) terhadap pertumbuhan *C. albicans* pada setiap kelompok konsentrasi. Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan tersebut, maka dilakukan analisis *Post-Hoc* (*Mann-Whitney*). Hasil uji *Post-Hoc* (*Mann-Whitney*) didapatkan adanya perbedaan zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak (Dahlan MS. 2009 ; Santoso S. 2010). Zona hambat terbesar diperoleh pada kelompok konsentrasi 100% (9,00 mm) dan zona hambat yang terkecil pada kelompok konsentrasi 10% (0,19 mm). Semakin kecil konsentrasi maka zona hambat yang terbentuk juga semakin kecil, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* sehingga terlihat zona hambat yang terbentuk semakin besar.

Ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) yang digunakan pada penelitian ini adalah biji jintan hitam yang diekstrak dengan pelarut etanol 70%, mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat menarik zat aktif yang bersifat polar yang terkandung dalam biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) lebih banyak. Zat aktif tersebut diantaranya

alkaloid, triterpenoid, saponin, flavonoid, dan tannin. Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman, tidak beracun dan tidak berbahaya, bersifat lebih selektif, daya absorpsinya baik dan dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan serta tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut.15 Kelemahan penggunaan pelarut etanol adalah etanol larut dalam air, dan juga melarutkan komponen lain, seperti karbohidrat, resin, dan gum. Larutnya komponen ini mengakibatkan berkurangnya tingkat kemurnian zat aktif yang terkandung dalam biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) (Hardaningtyas D. 2013).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi, dengan proses penyaringan dengan cara serbuk direndam sampai meresap atau melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Bahua H. 2012). Media pertumbuhan jamur yang digunakan dalam penelitian ini adalah SDA (Sabouraud dextrose agar), media ini sudah diperkaya mineral dan vitamin untuk pertumbuhan *C. Albicans*, terutama dekstroza, dan SDA merupakan standardisasi *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dalam menguji aktivitas antifungi dengan metode difusi cakram (Bahua H. 2012).

Suhu inkubasi, kepekatan jamur, dan pH medium yang optimal sangat berpengaruh bagi pertumbuhan *C. albicans*. Faktor utama yang

mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans* adalah suhu inkubasi, sebab untuk pertumbuhannya membutuhkan suhu yang optimal. *C. albicans* dapat tumbuh pada perbenihan dengan suhu (28-37)°C jamur dibuat sesuai standar 0,5 Mc Farland. Hal tersebut dilakukan agar koloni *C. albicans* yang tumbuh pada media SDA tidak terlalu tipis ataupun tebal, melainkan cukup untuk menutupi seluruh permukaan media sehingga daya hambat terhadap pertumbuhan jamur tersebut dapat dinilai dengan baik (Hudzicki J, 2011). Faktor lain yaitu pH medium yang baik untuk *C. albicans* melakukan pertumbuhan adalah pH 4,5 – 6,5 (Ramadhan AE., Phaza HA. 2011).

Daya hambat ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) terhadap pertumbuhan *C. albicans* dikarenakan oleh senyawa yang dapat bersifat sebagai antifungi, yaitu alkaloid, triterpenoid, saponin, flavonoid, dan tannin. Thymoquinone adalah alkaloid yang terdapat dalam ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) yang terbukti memiliki efek inhibisi terhadap *Candida* (Abu-Al-Basal MA. 2009). Mekanisme penghambatannya adalah dengan menghambat germinasi konidia (Tjampaksari RC. 2006). Thymol dan carvacrol merupakan suatu senyawa golongan terpen yang banyak diproduksi oleh bermacam-macam jenis tumbuhan, bahkan ditemukan dalam buah-buahan. Mekanisme anti jamur triterpenoid, menghambat sintesis ergosterol, menghambat transformasi dari bentuk coccus menjadi filament, dan meningkatkan permeabilitas membran, mengubah topologi protein membran, dan mengganggu rantai respirasi Saponin memiliki aktivitas anti jamur dengan cara membentuk kompleks dengan sterol dan mempengaruhi permeabilitas membran kapang dan khamir *C. Albicans* (Mitchell GT. 2008). Salah satu golongan terbesar senyawa fenolik, sangat cepat membentuk kompleks dengan protein yang dapat menimbulkan kerusakan membran dan menghambat kerja enzim pada *C. albicans*.

Flavonoid juga berperan dalam menghambat pembentukan pseudohifa selama patogenesis (Tjampaksari RC. 2006). Mekanisme yang

dimiliki tannin adalah kemampuannya menghambat sintesis khitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada jamur (El-Their HKE, Bakeet DM, 2006)

Uji efektivitas ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) yang dikombinasi terhadap pertumbuhan *C. Albicans* dengan metode difusi secara *in vitro* menunjukkan hasil yang memiliki daya hambat yang baik. Efek antifungi ekstrak petroleum eter biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) dengan tea tree oil terhadap pertumbuhan *C. Albicans* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi tabung menunjukkan adanya efektivitas antifungi

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak menggunakan obat anti jamur sebagai kontrol positif sehingga tidak dapat diketahui perbandingan daya hambat antara ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) dengan obat anti jamur. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut yang sering digunakan adalah etanol yang mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak kandungan zat aktif dari biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Kelemahan penggunaan pelarut etanol adalah etanol larut dalam air, dan juga melarutkan komponen lain, seperti karbohidrat, resin, dan gum. Larutnya komponen ini mengakibatkan berkurangnya tingkat kemurnian zat aktif yang terkandung dalam biji jintan hitam (*N. sativa* Linn). Hardaningtyas D, 2011)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, ternyata ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* secara *in vitro*, dan terdapat perbedaan daya hambat ekstrak biji jintan hitam (*N. sativa* Linn) pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *C. albicans* secara *in vitro*. Zona hambat terbesar diperoleh pada kelompok konsentrasi 100% (9,00 mm) dan zona hambat terkecil diperoleh pada kelompok konsentrasi 10% (0,19 mm).

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Al-Basal MA. 2009. *In vitro and in vivo anti-microbial effects of Nigella sativa Linn seed extracts against clinical isolates from skin wound infections*. Am J of Applied Sciences.; 10: 1440-1447.
- Ajizah A. *Sensitivitas Salmonella thypimurium terhadap ekstrak daun Psidium guajava L*. Diunduh dari <http://bioscientie.unlam.ac.id/v1n1_ajizah.pdf> 8Juni 2013.
- Aktar N, Alakloby OM, Aljabre SHM., et al. 2013. *Comparison of antifungal activity of thymoquinone and amphotericin B against Fusarium soloni in-vitro*. Diunduh dari <http://apps.kfu.edu.sa/journal/eng/pdf/file/b8292.pdf> 24 Februari 2013.
- Al-jabre SHM., Randhawa MA, Alakloby OM, Alzahrani AJ. 2009. *Thymoquinone inhibits germination of dermatophyte arthrospores*. Saudi Medical Journal. Diunduh dari <www.smj.org.sa> 3 Maret 2013.
- Bahua H. 2012. *Perbandingan metode maserasi, remaserasi, perkolasi, dan reperkolasi dalam pembuatan ekstrak pegagan*. Diunduh dari <<http://www.farmako.uns.ac.id/perhipba/wpcontent/uploads/FSE.13.pdr>> 8 Juni 2013. <<http://www.Microbelibrary.org/index.php/libbrar>> 29 Januari 2013.
- Dahlan MS. 2009. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. Edisi 5. Salemba Medika; Jakarta.
- El-Their HKE, Bakeet DM. 2006. *The black seed Nigella sativa Linnaeus a mine for multi cures: A pea for urgent clinical evaluation of its volatile oil*. Diunduh dari http://taibahumedsc.net/issues/volum1_issue1/1.pdf 16 Maret 2013.
- Hardaningtyas D. 2013. *Uji efek antifungi ekstrak petroleum eter biji jintan hitam (Nigella sativa) terhadap pertumbuhan Candida albicans secara in vitro*. diunduh dari <<http://fk.ub.ac.id/filedownload/gigi/MajalahDyanitaHardaningtyas.Pdf>> 11 Juli 2013.
- Hudzicki J. 2011. *Kirby-bauer disk diffusion susceptibility test protocol*.
- Kuswaji. 2006. *Ilmu penyakit dan kelamin* Edisi4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta..
- Mahmudah TR. 2010. *Efek anti helmintik biji jintan hitam (Nigella sativa) terhadap Ascaris suum Goeze in vitro (Disertasi)*. UNS. Diunduh dari <eprints.uns.ac.id/45/1/pdf> 20 Maret 2012
- Mitchell GT. 2008. *Mikrobiologi kedokteran*. Edisi 23. EGC. Jakarta.
- Sotya P, Erni S, Agnes SS, Satiti RP. 2010. *Kolonisasi Candida pada penggunaan kontrasepsi hormonal dan nonhormonal (Penelitian pendahuluan)*. JMikol Ked Indon ; 7, 4-6
- Notoadmojo. S. 2010. *Metodologi penelitian kesehatan*. Edisi Revisi. PT Asdi Mahasatya; Jakarta.
- Ramadhan AE., Phaza HA. 2011 *Pengaruh konsentrasi etanol, suhu dan jumlah stage pada ekstraksi oleoresin jahe (Zingiber officinale Rosc) secara batch*. UNDIP. Semarang. Diunduh dari <http://eprints.undip.ac.id> 3 juni 2013.
- Santoso S. 2010. *Statistik non parametris*., PT. Elex Media Komputindo; Jakarta.
- Sastroasmoro B. 2008. *Dasar-dasar metodologi*