

EFEK KOMBINASI HABBATUSSAUDA (*Nigella Sativa*) DAN AMPISILIN TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

Oleh

Feriadri Utomo¹, Dian Takwa Haraha²

^{1,2}Jurusan Administrasi Bisnis, Politeknik NSC

Email: ¹feriadri.utomo@univrab.ac.id, ²takwaharah201@gmail.com

Article History:

Received: 27-07-2024

Revised: 02-08-2024

Accepted: 21-08-2024

Keywords:

Habbatussauda, *Nigella sativa*, *Escherichia coli*

Abstract: Resistensi bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik Ampisilin terus meningkat. Habbatussauda (*Nigella sativa*) dapat menghambat *Escherichia coli*. Oleh karena itu, penelitian ini mempelajari efek kombinasi Habbatussauda dan Ampisilin terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan metode disc diffusion, dengan rancangan penelitian post test only control group design, yang dibagi dalam 8 kelompok, yaitu 6 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol. Kelompok perlakuan terdiri atas kelompok 1 diberi kombinasi Habbatussauda konsentrasi 2 % dan Ampisilin 10 µg, kelompok 2 diberi kombinasi Habbatussauda konsentrasi 2,5 % dan Ampisilin 10 µg, kelompok 3 diberi kombinasi Habbatussauda konsentrasi 3 % dan Ampisilin 10 µg, kelompok 4 diberi kombinasi Habbatussauda konsentrasi 3,5 % dan Ampisilin 10 µg, kelompok 5 diberi Habbatussauda konsentrasi 100 %, kelompok 6 diberi Ampisilin 10 µg. Data berupa zona hambat semua kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji statistik yaitu uji One-Way ANOVA, dilanjutkan dengan uji post hoc. Penelitian ini menemukan kombinasi Habbatussauda dengan Ampisilin dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*, melebihi Ampisilin saja. Namun demikian, daya hambat kombinasi Habbatussauda dengan Ampisilin belum mampu menandingi daya hambat antibiotik Sipprofloksasin terhadap *Escherichia coli*. Oleh karena itu, Habbatussauda berpotensi dapat mencegah resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik Ampisilin.

PENDAHULUAN

Bakteri *Escherichia coli* merupakan mikrobiota usus besar yang secara umum tidak menyebabkan penyakit, akan tetapi dapat berubah menjadi patogen jika mereka menjadi dominan di saluran cerna atau mencapai jaringan di luar saluran cerna normal (Carroll et al, 2015). Saluran kemih merupakan tempat umum infeksi *Escherichia coli*, dan lebih dari 90% dari Infeksi Saluran Kemih (ISK) tanpa komplikasi disebabkan oleh infeksi *Escherichia coli*.

Tingkat kekambuhan setelah infeksi *Escherichia coli* adalah 44% selama 12 bulan. Di Amerika, sebanyak 50% wanita setidaknya mengalami satu episode ISK (Madappa, 2019).

Pedoman dari *Infectious Disease Society of America* (IDSA) untuk pengobatan awal ISK yang tersedia di Indonesia adalah beta-lactam, fosfomisin, fluoroquinolon, dan trimetoprim-sulfametoksazol. Sebagian besar pengobatan ISK telah resisten terhadap satu atau lebih antibiotik. Obat ampicilin, yang dulunya digunakan sebagai pengobatan umum ISK sekarang telah banyak ditinggalkan karena sebagian besar telah mengalami resistensi. Penggunaan Ampisilin sangat luas untuk bakteri Gram-negatif dan positif yang menyebabkan tingkat resistensi tinggi (Rosana et al, 2019).

Studi internasional ARESC (*Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cystitis*) terhadap 4,264 pasien wanita menunjukkan bahwa resistensi bakteri penyebab ISK terhadap ampicilin sekitar 51,7%. Studi lain menunjukkan resistensi mencapai 55,0%. Selain itu, penelitian di Irak menunjukkan bahwa resistensi ISK terhadap Ampisilin mencapai 66,9% (Rosana et al, 2019). Penelitian yang dilakukan pada 101 isolat *Escherichia coli* yang diambil dari kultur urin pada pediatri, dewasa dan lansia memiliki tingkat resistensi yang tinggi terhadap Ampisilin yakni 82,76%, 58% dan 63,64% (Alanazi et al, 2018).

Penelitian lain yang dilakukan di AS menunjukkan bahwa Multi Drug Resistance (MDR) *Escherichia coli* menunjukkan resistensi 97,8% terhadap ampicilin. Di Inggris, tingkat resistensi yang tinggi terhadap ampicilin yang diamati dari isolat *Escherichia coli* sebesar 55% (Alanazi et al, 2018). Di Indonesia, terdapat resistensi bakteri penyebab ISK terhadap ampicilin adalah 81,3% (Rosana et al, 2019). Selain itu, penelitian sensitivitas ampicilin yang dilakukan di rumah sakit tipe A, tipe B, dan tipe C terhadap isolat *Escherichia coli* yang dikultur dari darah, urin dan sputum memiliki sensitivitas paling rendah dalam mengatasi *Escherichia coli* dari beberapa antibiotik yang di uji (Dahesihdewi et al, 2019).

Thymoquinone pada Habbatussauda yang diinduksikan ke bakteri *Escherichia coli* terbukti secara kuat menghambat aktivitas ATPase dan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Ahmad et al, 2015). Aktivitas antimikroba dari thymoquinone dan berbagai ekstrak *Nigella sativa* telah dilaporkan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* (Randhawa et al, 2016). Habbatussauda lebih mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dibandingkan Ampicillin (Topcagic et al. 2017). Habbatussauda diduga menyebabkan peningkatan permeabilitas, sehingga terjadi kerusakan sel *Escherichia coli* (Topcagic et al. 2017; Shafodino, Lusilao, and Mwapagha 2022; Singh et al. 2014). Selain itu, Habbatussauda dapat mencegah keluarnya antibiotik yang sudah masuk ke dalam sel bakteri, sehingga meningkatkan efektivitas antibiotik (Hossain et al. 2021; Mouwakeh et al. 2018). Flavonoid pada Habbatussauda berperan sebagai bakterisida dan bakteriostatik dengan merusak membran bakteri, menghambat metabolisme energi bakteri dan menghambat sintesis bakteri (Bacha et al. 2016). Penelitian ini akan mempelajari efek kombinasi Habbatussauda dan Ampisilin terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

LANDASAN TEORI

Nigella sativa, umumnya dikenal sebagai jintan hitam atau Habbatussauda, adalah tanaman berbunga *dikotyledonous* (majdalawehi, 2015). Rekomendasi *World Health Organization* (WHO) pengobatan dengan menggunakan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan dan pengobatan penyakit. Salah satu tanaman yang dapat

digunakan sebagai obat adalah jintan hitam (*Nigella Sativa*) (Qonita Achmad, 2018). Merupakan tumbuhan tahunan setinggi 8-12 inci, dengan daun menyirip dan beruas-ruas. Bunganya soliter, menyerbuk sendiri, dan biasa berwarna biru dan putih. Buahnya berbentuk trigonal dan memiliki aroma yang khas, rasa pahit dan pedas (Pop *et al*, 2020). Untuk tanamannya sendiri berasal dari famili Ranunculaceae yang memiliki lebih dari 2.000 spesies dari 43 negara seluruh dunia. Genera terbesar adalah Ranunculus. Ini terdiri dari 600 spesies yang juga termasuk *Nigella sativa*. Benih tanaman ini sendiri disebut jintan hitam (Ahmad *et al*, 2020).

Secara morfologis, tanaman Habbatussauda ini memiliki tinggi 20-90 cm dan menghasilkan bunga bertuliskan kelopak 5-10 yang biasanya berwarna putih, biru pucat, ungu pucat, atau dalam beberapa kasus, biru tua. Jintan hitam bereproduksi secara aseksual, di mana buah terbentuk dengan biji enkapsulasinya. Setelah matang, biji putih yang dienkapsulasi terbuka, menjadi terkena udara, dan berubah menjadi hitam dalam warna, dan karenanya nama mereka (Majdalawieh and Fayyad 2015).

Habbatussauda memiliki efek terapeutik yang luas dan telah dilaporkan memiliki efek yang signifikan melawan banyak penyakit seperti penyakit kulit, *jaundice*, masalah gastrointestinal, anoreksia, konjungtivitis, dyspepsia, reumatik, intrinsik hemorrhage, paralisis, amenorhea, asma, batuk, bronkitis, sakit kepala, demam, influenza dan eksema (Forouzanfar *et al*, 2014). Habbatussauda telah banyak digunakan sebagai antihipertensi, tonik hepar, diuretik, obat pencernaan, antidiare, stimulan nafsu makan, analgetik, antibakteri pada kulit. Studi ekstensif pada Habbatussauda menemukan beberapa manfaat yaitu antidiabetes, antikanker, imunomodulator, analgetik, antimikroba, antiinflamasi, spasmolitik, bronkodilator, proteksi hepar, proteksi renal, proteksi gaster dan antioksidan (Ahmad *et al*, 2013).

Thymoquinone dan thymohydroquinone pada Habbatussauda dapat membentuk kompleks yang ireversibel dengan asam amino nukleofilik yang akhirnya menyebabkan inaktivasi protein bakteri (Putra 2015). Thymol pada Habbatussauda dapat mengakibatkan gangguan fraksi lipid pada membran plasma bakteri, yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran pada bakteri (Memar *et al*, 2017). Thymoquinone pada Habbatussauda memiliki aktivitas antibakteri yang dapat diperkuat oleh antibiotik (Forouzanfar *et al*, 2014)

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode *disc diffusion*, dengan rancangan penelitian *post test only control group design*, yang dibagi dalam 8 kelompok, yaitu 6 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol. Kelompok perlakuan terdiri atas kelompok 1 diberi kombinasi Habbatussauda konsentrasi 2 % dan Ampisilin 10 µg, kelompok 2 diberi kombinasi Habbatussauda konsentrasi 2,5 % dan Ampisilin 10 µg, kelompok 3 diberi kombinasi Habbatussauda konsentrasi 3 % dan Ampisilin 10 µg, kelompok 4 diberi kombinasi Habbatussauda konsentrasi 3,5 % dan Ampisilin 10 µg, kelompok 5 diberi Habbatussauda konsentrasi 100 %, kelompok 6 diberi Ampisilin 10 µg. Kelompok kontrol terdiri atas kelompok kontrol positif diberi siprofloksasin dan kelompok negatif hanya diberi aquades.

Biji Habbatussauda (*Nigella sativa*) yang digunakan pada penelitian ini pastikan

oleh Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Riau. Biji Habbatussauda sebanyak 500 gram dalam keadaan kering dan bersih dihaluskan dengan menggunakan mesin penggiling (*grinder*), lalu biji Habbatussauda yang telah dihaluskan direndam dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2500 mL, dengan perbandingan 1:5 pelarut etanol 96%. Biji Habbatussauda yang telah direndam dengan menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dikocok, lalu kemudian didiamkan selama 24 jam.

Setelah itu, sampel Habbatussauda disaring, kemudian di *rotary evaporator*. Saat di dalam *rotary evaporator*, pelarut etanol 96% di vakum lalu didestilasi sehingga menjadi cair. Cairan hasil destilasi yang didapatkan berupa ekstrak Habbatussauda konsentrasi 100%. Untuk membuat ekstrak Habbatussauda konsentrasi 2 %, maka dicampurkan 0,06 ml ekstrak Habbatussauda konsentrasi 100% dengan 2,94 ml aquades. Untuk membuat ekstrak Habbatussauda konsentrasi 2,5 %, maka dicampurkan 0,075 ml ekstrak Habbatussauda konsentrasi 100% dengan 2,925 ml aquades. Untuk membuat ekstrak Habbatussauda konsentrasi 3 %, maka dicampurkan 0,09 ml ekstrak Habbatussauda konsentrasi 100% dengan 2,91 ml aquades. Untuk membuat ekstrak Habbatussauda konsentrasi 3,5 %, maka dicampurkan 0,105 ml ekstrak Habbatussauda konsentrasi 100% dengan 2,895 ml aquades. Bakteri *Escherichia coli* dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni *Escherichia coli* ke dalam media *MacConkey Agar*, lalu selanjutnya diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam di inkubator. Untuk memastikan bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh pada media kultur tersebut, maka dilakukan identifikasi dengan cara:

1. Pewarnaan Gram

Sediaan bakteri dipersiapkan dengan cara mencampurkan akuades steril dengan sedikit biakan bakteri di atas kaca objek kemudian apusan difiksasi sebanyak 3-4 kali di atas api bunsen. Setelah kering tuangkan kristal violet pada sediaan lalu dibiarkan selama 1 menit, kemudian bilas dengan air. Setelah itu tuangkan lugol pada sediaan dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air. Setelah itu lunturkan dengan alkohol 96% selama 5-10 detik lalu dibilas dengan air (AL-Baer dan Hussein, 2017). Kemudian dituangkan safranin pada sediaan dan biarkan selama 30 detik, lalu dibilas dengan air dan keringkan dengan tisu. Sediaan lalu ditetesi minyak emersi sebelum diperiksa dengan mikroskop. Hasil pewarnaan Gram meliputi reaksi Gram (ungu – biru menunjukkan bakteri Gram positif, merah menunjukkan bakteri Gram negatif). *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif, sehingga pada pewarnaan Gram menunjukkan warna merah (AL-Baer dan Hussein, 2017).

2. Uji Biokimia

a) Uji *Methyl Red* (MR)

Pengujian dengan MR dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri dapat membentuk asam sehingga dapat mengubah indikator MR menjadi merah. Pada uji MR, biakan bakteri diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media MR. Inkubasi tabung selama 24 jam pada temperatur 37°C. Tambahkan 3 atau 4 tetes MR pada media MR. Perubahan warna media menjadi merah seketika menunjukkan hasil positif, yang artinya bakteri menghasilkan asam campuran (metilen glikon) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam media MR. *Escherichia coli* sendiri menghasilkan kadar asam yang tinggi, maka pada uji MR akan terjadi perubahan warna menjadi warna merah setelah ditambahkan indikator MR (AL-Baer dan Hussein, 2017).

b) Uji Indol

Uji indol digunakan untuk membedakan famili dari *Enterobacteriaceae*. Cara pengujiannya yaitu koloni diinokulasi ke dalam kaldu air pepton dan diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 24 jam dalam inkubator pengocok. Setelah inkubasi, beberapa tetes reagen *Kovac* ditambahkan. Kehadiran cincin berwarna merah muda menunjukkan hasil positif. Terbentuknya cincin merah muda dikarenakan bakteri membentuk indol dari asam amino esensial triptofan. *Escherichia coli* mampu membentuk indol dari asam amino esensial triptofan di sekitar inokulasi dan terdapat cincin merah muda setelah ditambahkan reagen *Kovacs* (AL-Baer dan Hussein, 2017).

c) Uji *Simmon's Citrate Agar* (SCA)

Uji sitrat digunakan untuk melihat kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Uji sitrat dilakukan dengan cara mengambil 1 ose bakteri dan diinokulasikan ke dalam media SCA, lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 18-48 jam. Reaksi positif didapatkan jika media berwarna biru dan hijau menandakan reaksi negatif. *Escherichia coli* tidak mampu memfermentasikan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon untuk metabolisme sehingga reaksinya negatif (AL-Baer dan Hussein, 2017).

d) Uji Katalase

Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri. Uji katalase dilakukan dengan cara 1 koloni bakteri isolat diambil dan digoreskan pada kaca objek, lalu kemudian teteskan hidrogen peroksida 3%. Kehadiran gelembung gas pada kaca objek menunjukkan hasil yang positif. Karena *Escherichia coli* memiliki aktivitas katalase maka terdapat gelembung gas saat dilakukan pengujian (AL-Baer dan Hussein, 2017).

Bakteri diencerkan dengan cara mencampurkan 1 ose suspensi bakteri *Escherichia coli* ke dalam larutan NaCl, kemudian dicampurkan hingga homogen dengan vortex dan kekeruhannya distandarisasi dengan larutan *McFarland* 0,5. Setelah itu bakteri kemudian dioleskan pada permukaan MHA agar dengan swab kapas steril. Biarkan inokulum kering dengan suhu ruangan selama beberapa menit. Lalu letakkan cakram ampicilin pada permukaan agar dengan menggunakan pinset, kemudian teteskan ekstrak jintan hitam dengan konsentrasi 2%, 2,5%, 3%, dan 3,5% diatas cakram ampicilin tersebut di dalam *laminar air flow*.

Selanjutnya untuk pengujian ampicilin tunggal letakkan cakram ampicilin pada permukaan dengan menggunakan pinset, sedangkan untuk ekstrak etanol 100% jintan hitam ditetaskan di cakram yang kosong yang telah terlebih dahulu diletakkan di permukaan agar. Selanjutnya media tersebut diinkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam, kemudian ukurlah zona terang (*clear zone*) dengan menggunakan jangka sorong. Setelah itu, untuk menentukan jumlah pengulangan dapat digunakan rumus Federer Formula:

$$(r-1) (t-1) \geq 15$$

Keterangan:

r = Jumlah pengulangan

t = Jumlah perlakuan,

Pada penelitian ini t = 8 kelompok (6 konsentrasi, 1 kontrol negatif dan 1 kontrol positif)

Maka banyaknya jumlah pengulangan adalah:

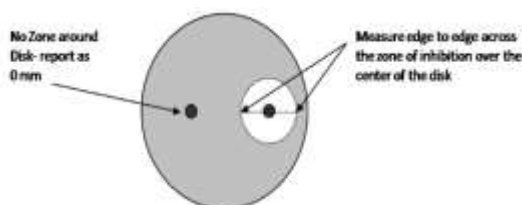
$$\begin{aligned}(r-1)(8-1) &\geq 15 \\ 7(r-1) &\geq 15 \\ 7r - 7 &\geq 15 \\ 7r &\geq 22 \\ r &\geq 3,14\end{aligned}$$

Karena hasil pengulangannya 3,14 maka pengulangan pada penelitian ini dibulatkan menjadi sebanyak 3 kali pengulangan.

Cara mengukur zona hambat sebagai berikut:

- Ukur zona hambat hingga milimeter terdekat menggunakan penggaris atau caliper, termasuk diameter disk dalam pengukuran.
- Saat mengukur diameter zona hambat, selalu bulatkan ke milimeter selanjutnya.
- Pengukuran dilakukan dengan cara melihat pada bagian belakang cawan petri, lalu pegang beberapa inci di atas permukaan hitam yang tidak merefleksikan cahaya.
- Lihat dengan garis pandang vertikal untuk menghindari paralaks yang dapat menyebabkan kesalahan membaca.
- Jika penempatan disk atau ukuran zona hambat tidak memungkinkan dibaca seperti tumpang tindih, maka ukurlah dari pusat disk ke titik pada keliling zona hambat dan kalikan 2 untuk menentukan diameter.
- Catat ukuran zona hambat pada kertas

Cara mengukur zona hambat dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 1 Cara mengukur zona hambatan

Data berupa zona hambat semua kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji statistik yaitu uji *One-Way ANOVA* karena data terdistribusi normal, selanjutnya dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian berupa diameter zona hambat kombinasi Ampisilin dan Habbatussauda dengan berbagai konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel berikut:

	N	Mean	Std. Deviation	Min	Max
Ampisilin + Habbatussauda 2%	3	15,20*	0,15	15,05	15,35
Ampisilin + Habbatussauda 2,5%	3	16,20*	0,53	15,65	16,70

Ampisilin +Habbatussauda 3%	3	15,92*	1,19	14,55	16,75
Ampisilin + Habbatussauda 3,5%	3	16,73*	0,48	16,30	17,25
Ampisilin	3	0,27*	0,25	0,00	0,50
Habbatussauda	3	2,67*	1,26	1,50	4,00
Kontrol +	3	23,28	0,93	22,35	24,20
Kontrol -	3	0,00	0,00	0,00	0,00

*p Value < 0,05

Tabel di atas menunjukkan bahwa hasil penelitian ini mendapatkan peningkatan zona hambat secara signifikan (p Value < 0,05) pada semua kelompok perlakuan kombinasi Habbatussauda berbagai konsentrasi dan Ampisilin dibandingkan dengan kelompok Ampisilin dan Habbatussauda.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, kombinasi Habbatussauda berbagai konsentrasi dengan ampisilin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* lebih tinggi dibandingkan dengan ampisilin atau Habbatussauda saja terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini karena Habbatussauda memiliki kandungan antibakteri seperti thymoquinone, thymohydroquinone, thymol dan carvacrol (Forouzanfar *et al*, 2014). Thymoquinone yang diinduksikan ke bakteri *Escherichia coli* terbukti secara kuat menghambat aktivitas ATPase dan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Ahmad *et al*, 2015). Thymoquinone memiliki efek daya hambat terhadap beberapa yang di uji termasuk bakteri *Escherichia coli* (Halawani 2009). Aktivitas antimikroba dari thymoquinone dan berbagai ekstrak *Nigella sativa* telah dilaporkan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* (Randhawa *et al*, 2016).

Thymoquinone dan thymohydroquinone pada protein bakteri diduga dapat membentuk kompleks yang ireversibel dengan asam amino nukleofilik yang akhirnya menyebabkan inaktivasi protein (Putra 2015). Mekanisme antibakteri thymol dapat mengakibatkan gangguan fraksi lipid pada membran plasma bakteri, yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran pada bakteri. Efek antibakteri thymol dan carvacrol terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *S. aureus* menyebabkan gangguan integritas membran, yang selanjutnya mempengaruhi homeostasis pH dan keseimbangan ion organik (Memar *et al*, 2017). Thymoquinone menunjukkan aktivitas antimikroba yang signifikan melawan bakteri anaerob walaupun jauh lebih lemah dari metronidazole (Randhawa *et al*, 2016). Thymoquinone memiliki aktivitas antibakteri yang dapat diperkuat oleh antibiotik (Forouzanfar *et al*, 2014).

Ampisilin merupakan antibiotik beta-lactam spektrum luas, semi sintetik, yang memiliki aktivitas bakterisidal. Ampisilin akan berikatan dengan dan menonaktifkan *penicillin-binding protein* (PBP) yang terletak di membran dalam dinding sel bakteri. Inaktivasi PBP akan mengganggu hubungan silang rantai peptidoglycan yang dibutuhkan untuk kekuatan dan kekakuan dinding sel. Hal ini akan mengganggu sintesis dinding sel bakteri dan mengakibatkan melemahnya dinding sel bakteri dan menyebabkan sel menjadi lisis. Ampisilin stabil terhadap hidrolisis oleh berbagai beta-lactamase, oleh karena itu obat ini dapat digunakan untuk pengobatan berbagai infeksi bakteri gram negatif dan positif (National Center for Biotechnology Information 2020). Ampisilin dulunya digunakan sebagai

pengobatan umum ISK, akan tetapi sekarang telah banyak ditinggalkan karena sebagian besar telah mengalami resistensi. Penggunaan Ampisilin sangat luas untuk bakteri Gram-negatif dan positif yang menyebabkan tingkat resistensi tinggi (Rosana *et al*, 2019). Oleh karena banyak kejadian tentang ISK setiap tahunnya dan resistensinya terhadap pengobatan serta kemungkinan untuk terjadi komplikasi lebih lanjut, maka peneliti ingin mengkombinasikan antibiotik dengan bahan alam sebagai alternatif pengobatan untuk ISK.

Pada penelitian ini, kombinasi Habbatussauda dan ampisilin memiliki aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas antibakteri pada Habbatussauda atau ampisilin saja terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan bahan alam bisa digunakan dalam kombinasi dengan antibiotik untuk meningkatkan aktivitas melawan infeksi bakteri. Bahan alam dapat bertindak secara kombinasi dengan obat-obatan untuk membunuh mikroba, bahan alam dapat menonaktifkan / menghancurkan enzim yang diproduksi oleh bakteri untuk menurunkan aktivitas antibiotik, obat bahan alam dapat menghambat aksi pompa efluks yang membuat bakteri tidak bisa menghilangkan antibiotik dari tubuh mereka. Kombinasi dapat memberikan strategi baru untuk pengobatan penyakit infeksius dengan mengurangi efek samping yang dihasilkan antibiotik. Kombinasi mengakibatkan peningkatan *killing rate*, potensiasi obat, pencegahan eliminasi obat, dan efek yang lebih baik *in vivo* (Bhardwaj *et al*, 2016). Penelitian ini sejalan dengan penelitian Aljabre *et al* (2015) yang menyatakan bahwa *Nigella sativa* memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Escherichia coli*, yang mana menunjukkan efek sinergistik dengan ampisilin.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa zona hambat terbesar yaitu pada kombinasi ampisilin dan jintan hitam 3,5% dengan diameter rata-rata 16,73mm, sedangkan zona hambat terkecil yaitu pada kombinasi ampisilin dan Habbatussauda 2% dengan diameter rata-rata 15,20mm, dengan ini berarti bahwa kombinasi ampisilin dengan Habbatussauda 3,5% yang memiliki zona hambat terbesar sekalipun masih belum bisa menyamai siprofloksasin sebagai kontrol positif, karena daya hambat *susceptible* dari siprofloksasin adalah >21mm, sedangkan daya hambat medium siprofloksasin adalah 16-20mm (Clinical and Laboratory Standards Institute 2017). Penelitian ini sesuai dengan penelitian Fitriyanti *et al* (2019) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar pula zona hambat yang diperoleh. Menurut Fitriyanti *et al* (2019) besarnya suatu konsentrasi menyebabkan meningkatnya suatu kandungan senyawa aktif sehingga kemampuan membunuh bakteri juga meningkat.

Pada penelitian ini, daya hambat terbesar dari kombinasi Habbatussauda 3,5% dan ampisilin yaitu 16,73mm, yang mana masih belum bisa menyamai daya hambat *susceptible* kontrol positif (siprofloksasin) yaitu >21mm. Menurut Aseng (2015) diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu faktor teknis, konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak, dan jenis bakteri yang digunakan. Menurut Vandepitte *et al* (2003) Faktor teknis yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat yaitu kepekatan inokulum, suhu inkubasi, waktu inkubasi, sifat media, dan potensi zat antibakteri. Jika inokulum terlalu encer maka diameter zona hambat akan lebih lebar. Begitu juga sebaliknya, jika inokulum terlalu pekat maka diameter zona hambat akan lebih kecil.

Zona hambat yang terbentuk juga berkaitan dengan potensi zat antibakteri, jika zat antibakteri mengalami kerusakan selama penyimpanan maka dapat mengakibatkan

pengurangan diameter zona hambat. Media dapat mempengaruhi zona hambat melalui efeknya terhadap kecepatan pertumbuhan bakteri dan kecepatan difusi zat antibakteri (Vandepitte *et al*, 2003). Kecepatan difusi zat antibakteri bergantung pada sifat difusi, kelarutan zat antibakteri dalam media MHA, dan berat molekul zat antibakteri. Senyawa dengan molekul yang lebih besar akan berdifusi lebih lambat dibandingkan senyawa dengan molekul yang lebih kecil. Faktor tersebut menyebabkan senyawa antibakteri memiliki diameter zona hambat yang bervariasi (Hudzicki 2016). Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu menggunakan metode difusi cakram, dimana sebaiknya menggunakan metode difusi sumuran. Hal ini disebabkan pada metode difusi sumuran osmolaritas terjadi secara menyeluruh dan lebih homogen sehingga lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

KESIMPULAN

Kombinasi Habbatussauda dengan Ampisilin dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*, melebihi Ampisilin saja. Namun demikian, daya hambat kombinasi Habbatussauda dengan Ampisilin belum mampu menandingi daya hambat antibiotik Siprofloksasin terhadap *Escherichia coli*

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ahmad, Aftab, Asif Husain, Mohd Mujeeb, Shah Alam Khan, Abul Kalam Najmi, Nasir Ali Siddique, Zoheir A. Damanhour, and Firoz Anwar. 2013. "A Review on Therapeutic Potential of Nigella Sativa: A Miracle Herb." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60075-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60075-1).
- [2] Ahmad, Faruque, Fakhruddin Ali, Syed Amir, Hisham H Saad, Shadma Wahab, Mohammed Idreesh, M Ali, and Syam Mohan. 2020. "Since January 2020 Elsevier Has Created a COVID-19 Resource Centre with Free Information in English and Mandarin on the Novel Coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 Resource Centre Is Hosted on Elsevier Connect , the Company ' s Public News and Information , " no. January.
- [3] Ahmad, Zulfiqar, Thomas F. Laughlin, and Ismail O. Kady. 2015. "Thymoquinone Inhibits Escherichia Coli ATP Synthase and Cell Growth." *PLoS ONE* 10, no. 5: 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127802>.
- [4] AL-Baer, Ali saadi, and Asmaa A Hussein. 2017. "Isolation and Identification of Escherichia Coli Producing Cytosine Deaminase from Iraqi Patients." *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 4, no. 11: 1–6. <https://doi.org/10.22192/ijarbs>.
- [5] Alanazi, Menyfah Q, Fulwah Y Alqahtani, and Fadilah S Aleanizy. 2018. "An Evaluation of E. Coli in Urinary Tract Infection in Emergency Department at KAMC in Riyadh, Saudi Arabia: Retrospective Study." *NCBI* 17, no. 3: 1–20.
- [6] Aseng. 2015. "Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera Foetida* L.) Dan Infusa Lidah Buaya (*Aloe Vera* L.) Terhadap *Staphylococcus Aureus*." *Naskah Publikasi Universitas Tanjungpura*.
- [7] Bacha, Ketema, Yinebeb Tariku, Fisseha Gebreyesus, Shibru Zerihun, Ali Mohammed, Nancy Weiland-Bräuer, Ruth A. Schmitz, and Mulugeta Mulat. 2016. "Antimicrobial and Anti-Quorum Sensing Activities of Selected Medicinal Plants of Ethiopia:

- Implication for Development of Potent Antimicrobial Agents." *BMC Microbiology* 16, no. 1 (July). <https://doi.org/10.1186/S12866-016-0765-9>.
- [8] Bhardwaj, Monika, R Bhoj Singh, K Dharmendra Sinha, and Prasanna Vadhana. 2016. "Potential of Herbal Drug and Antibiotic Combination Therapy: A New Approach to Treat Multidrug Resistant Bacteria." *Pharmaceutica Analytica Acta* 7, no. 11: 2–11. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000523>.
- [9] Carroll, Karen C., Stephen A. Morse, Timothy Mietzner, and Steve Miller. 2015. "Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology." In , 27th ed., 233–35. New York: McGraw Hill Education.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing" 37, no. 1: 64.
- [11] Dahesihdewi, Andaru, Adhi Kristianto Sugianli, and Ida Parwati. 2019. "The Surveillance of Antibiotics Resistance in Indonesia: A Current Reports." *Bali Medical Jurnal* 8, no. 2: 474–79.
- [12] Fitriyanti, Abdurrazzaq, and Muhammad Nazarudin. 2019. "Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Bawang Dayak (Eleutherine Palmifolia Merr) Terhadap Staphylococcus Aureus Dengan Metode Sumuran." *Jurnal Ilmiah Manuntung* 5, no. 2: 174–82.
- [13] Forouzanfar, Fatemeh, Bibi Sedigheh Fazly Bazzaz, and Hossein Hosseinzadeh. 2014. "Black Cumin (Nigella Sativa) and Its Constituent (Thymoquinone): A Review on Antimicrobial Effects." *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 17, no. 12: 929–38. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2015.3849>.
- [14] Halawani, Eman. 2009. "Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of Nigella Sativa L. and Their Interaction with Some Antibiotics." *Advances in Biological Research* 3, no. 5–6: 148–52.
- [15] Hossain, Md Sanower, Ashik Sharfaraz, Amit Dutta, Asif Ahsan, Md Anwarul Masud, Idris Adewale Ahmed, Bey Hing Goh, Zannat Urbi, Md Moklesur Rahman Sarker, and Long Chiau Ming. 2021. "A Review of Ethnobotany, Phytochemistry, Antimicrobial Pharmacology and Toxicology of Nigella Sativa L." *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie* 143, no. November (November). <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2021.112182>.
- [16] Hudzicki, Jan. 2016. "Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol." *American Society For Microbiology*, no. December 2009: 1–13.
- [17] Madappa, Tarun. 2019. "Escherichia Coli (E Coli) Infections Workup: Laboratory Studies, Imaging Studies, Other Tests."
- [18] Majdalawieh, Amin F., and Muneera W. Fayyad. 2015. "Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Action of Nigella Sativa and Thymoquinone: A Comprehensive Review." *International Immunopharmacology* 28, no. 1: 295–304. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.06.023>.
- [19] Memar, Mohammad Y., Parisa Raei, Naser Alizadeh, Masoud Akbari Aghdam, and Hossein Samadi Kafil. 2017. "Carvacrol and Thymol: Strong Antimicrobial Agents against Resistant Isolates." *Reviews in Medical Microbiology* 28, no. 2: 63–68. <https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000100>.
- [20] Mouwakeh, Ahmad, Ágnes Telbisz, Gabriella Spengler, Csilla Mohácsi-Farkas, and

- Gabriella Kiskó. 2018. "Antibacterial and Resistance Modifying Activities of Nigella Sativa Essential Oil and Its Active Compounds Against *Listeria Monocytogenes*." *In Vivo (Athens, Greece)* 32, no. 4 (July): 737–43. <https://doi.org/10.21873/INVIVO.11302>.
- [21] National Center for Biotechnology Information. 2020. "Ampicillin." *PubChem*.
- [22] Pop, Raluca Maria, Adrian Pavel Trifa, Ada Popolo, Veronica Sanda Chedea, Claudia Militaru, Ioana Corina Bocsan, and Anca Dana Buzoianu. 2020. "Nigella Sativa: Valuable Perspective in the Management of Chronic Diseases." *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 23, no. 6: 699–713. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2020.37734.8978>.
- [23] Putra, Nordiansyah. 2015. "Effect Antimicrobacterial Nigella Sativa for Inhibits." *Journal Majority* 4, no. 4: 70–73. <https://doi.org/10.1128/AAC.01128-08>.
- [24] Qonita Achmad, Irmawati Dikman, Sulistiana Prabowo. 2018. "Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam (Nigella Sativa L.) Terhadap Aktivitas Enzim Katalase Jaringan Pankreas Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Alokasan." *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma* 7, no. 1: 107–17.
- [25] Randhawa, Mohammad Akram, Awwad Khalaf Alenazy, Majed Gorayan Alrowaili, and Jamith Basha. 2016. "An Active Principle of Nigella Sativa L., Thymoquinone, Showing Significant Antimicrobial Activity against Anaerobic Bacteria." *Journal of Intercultural Ethnopharmacology* 6, no. 1: 97–101. <https://doi.org/10.5455/jice.20161018021238>.
- [26] Rosana, Yeva, Matthew Billy, and Dwiana Ocviyanti. 2019. "In Vitro Resistance Pattern of Urinary Tract Infections-Causing Bacteria to Ampicillin and Ciprofloxacin." *Medcrave* 10, no. 5: 372–76.
- [27] Shafodino, Festus S., Julien M. Lusilao, and Lamech M. Mwapagha. 2022. "Phytochemical Characterization and Antimicrobial Activity of Nigella Sativa Seeds." *PloS One* 17, no. 8 (August). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0272457>.
- [28] Singh, Sunita, S. S. Das, G. Singh, Carola Schuff, Marina P. De Lampasona, and César A.N. Catalán. 2014. "Composition, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil and Oleoresins Obtained from Black Cumin Seeds (*Nigella Sativa* L.)." *BioMed Research International* 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/918209>.
- [29] Topcagic, Anela, Sanja Cavar Zeljkovic, Erna Karalija, Semira Galijasevic, and Emin Sofic. 2017. "Evaluation of Phenolic Profile, Enzyme Inhibitory and Antimicrobial Activities of Nigella Sativa L. Seed Extracts." *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences* 17, no. 4: 286–94. <https://doi.org/10.17305/BJBMS.2017.2049>.
- [30] Vandepitte, J., K. Engbaek, P. Rohner, P. Piot, and C. C. Heuck. 2003. *Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology*. World Health Organization. Second Edi. Geneva.

HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN