

Sensitivitas ekstrak tanaman kemangi (*Ocimum sactum*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*

(Sensitivity of *Ocimum sactum* L extract on *Aeromonas hydrophila*)

Mutiara E. Sambuaga¹, Sammy N.J. Longdong², Henky Manoppo²

¹⁾ Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

²⁾ Staf Pengajar Pada Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

E-mail: sambuagamutiara@yahoo.com

Abstract

The research was conducted to appraise the antimicrobial activity of *Ocimum sactum* extract on *A. hydrophila*. Fresh basil was purchased from the local market, put in plastic bags and brought to Laboratory of Fish Health, Environment, and Toxicology, Faculty of Fisheries and Marine Science Sam Ratulangi University. The basil was cleaned and separated between trunk and leaf, and then macerated in alcohol 70% at room temperature for 24 hours. The extract was filtered using Whatman paper and evaporated using rotary evaporator. Paper disc (diameter: 6 mm) was immersed in the extract, placed on TSA previously inoculated with *A. hydrophila*, and incubated at 28oC for 24 hours. The result showed that trunk and leaf extracted with alcohol 70% did not inhibit the grow of bacteria while aquades extract was able to inhibit growth of bacteria indicated by the present of clear zone around the paper discs with a diameter of 16.5 mm for leaf and 20.5 mm for basil trunk. The ability of these two extracts to inhibit the growth of bacteria was categorized as strong. Thus, aquades extract of basil was able to inhibit the growth of pathogenic bacteria.

Keywords: *Ocimum sactum*, antimicrobial, disc diffusion method, medicinal plant, inhibition zone

PENDAHULUAN

Genus *Ocimum* termasuk dalam family *lamiaceae*. Genus ini tersebar luas di daerah tropik dan biasanya disebut sweet basil. naman ini merupakan tanaman tahunan dan mengandung bahan-bahan obat yang sangat baik dan beberapa bahan anti oksidan. Pada obat tradisional, kemangi sudah digunakan sebagai antiseptik,

pengawet, *sedative*, pengatur pencernaan (*digestive regulator*), dan diuretic. Tanaman ini juga sudah direkomendasikan untuk pengobatan sakit kepala, batuk, infeksi saluran pernapasan, gagal ginjal dan memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Unnitaan *et al.*, 2013). Menurut Tewari *et al.* (2012), kemangi merupakan

sumber mineral maupun bahan-bahan fitokimia yang merupakan bahan bioaktif dan sangat berpotensi untuk berbagai pengobatan.

Sebagian besar populasi dunia bergantung pada obat-obat tradisional karena kurang tersedia dan mahalnya obat serta adanya efek samping yang merugikan (Nahak dan Sahu, 2014). Obat tradisional digunakan sebagai obat perawatan primer bukan hanya di desa-desa. Di negara berkembang tetapi juga di negara maju dimana obat-obat modern digunakan. Sebagai tambahan tanaman obat memberikan penghematan terhadap penggunaan obat-obat modern. Tanaman obat kaya akan metabolit, dan minyak esensial yang penting untuk pengobatan. Keuntungan dari penggunaan tanaman obat untuk berbagai penyakit adalah murah dan aman, efektif, efek samping yang kecil, dan mudah diperoleh. Karena keuntungan-keuntungan ini maka tanaman obat secara luas sudah digunakan sebagai obat tradisional dari hari ke hari diantara tanaman-tanaman obat yang sudah diketahui genus *ocimum* adalah kaya akan bahan phenolic dan sangat potensial untuk pengobatan.

Nahak dan Sahu (2014) melaporkan bahwa berbagai studi laboratorium telah menunjukkan berbagai efek dari kemangi yang meliputi bakterisida, anti inflamasi, antioksidan, anti ulcer, anti diare, *chemopreventive*, *hypoglycemic*, stimulasi sistim saraf dan radiation protection. Pengaruh pengobatan yang luar biasa ini berkaitan dengan potensi farmatik karena keberadaan bahan-bahan aktif seperti kandunga flavonoid dan folifenol.

Komposisi bahan-bahan minyak esensial kemangi sudah dipelajari sejak tahun 1930 dan saat itu lebih dari 200 komponen kimia sudah diidentifikasi berbagai penelitian melalui penapisan ekstrak aqueous dan analisis elemen mendapatkan keberadaan berbagai bahan bioaktif glikosida, gums, munitage, protein, aminoacids, tannins, bahan phenolic, triterpenoid steroid, steroids, saponins, flavones dan flafonoids. Yang dapat meningkatkan proses penyembuhan. (Nguyen *et al.*, 2008).

Suatu review ekstensif terhadap penggunaan bahan-bahan imunostimulatori pada ikan menunjukkan bahwa ekstrak herbal dapat digunakan dalam budidaya ikan sebagai alternative terhadap vaksin, anti biotik, atau bahan-bahan kimia. Penggunaan bahan-bahan ini merupakan sumber yang lebih murah untuk tritmen dan akurasinya lebih besar dibandingkan dengan bahan-bahan kimia tanpa menyebabkan keracunan (Madhuri *et al.*, 2012, Tewari *et al.*, 2012).

Berbagai jenis tanaman bumbu dan tanaman obat saat ini telah banyak digunakan baik sebagai antimikroba, imunostimulan, antioksidan maupun sebagai bahan perangsang pertumbuhan. Extract jahe telah dilaporkan mampu meningkatkan resistensi ikan nila terhadap *A. hydrophila* (Payung *et al.*, 2017). Ekstrak bawang putih telah dilaporkan mampu meningkatkan respon imun nonspesifik dan pertumbuhan ikan nila (Marentek *dkk.*, 2013; Manoppo *et al.*, 2016). Pada ikan rainbow trout, penambahan 0.5 – 1 g per 100 g pakan mampu menurunkan mortalitas ikan yang diinfeksi dengan *A. hydrophila* sebagai hasil dari meningkatnya jumlah leukosit, aktivitas

fagositosis, respiratory burst, lysozyme, anti-protease dan aktivitas bakterisidal ekstrak kemangi (Nya and Austin, 2009). Penelitian ini menggunakan tanaman obat kemangi untuk menguji potensinya sebagai antimikroba terhadap bakteri *A. hydrophila*.

METODE PENELITIAN

Bahan uji

Bahan uji yang akan digunakan dalam penelitian adalah tanaman obat kemangi dalam keadaan segar yang dibeli dari pasar lokal. Kemangi yang diperoleh dimasukkan dalam kotak plastik kemudian dibawa ke Laboratorium Kesehatan Ikan, Lingkungan dan Toksikologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat.

Ekstraksi Kemangi

Proses penyiapan ekstrak dimulai dengan cara pertama-tama kemangi yang baru dibawa dari pasar dicuci bersih, ditiriskan kemudian dipisahkan antara simplisia batang dan daun. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan bahan pelarut yaitu alkohol 70 % dan akuades. Dalam proses ini simplisia batang dan daun ditimbang sebanyak 20 gram, dihaluskan dengan menggunakan blender kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 100 mL pelarut. Campuran bahan pelarut dan simplisia tersebut diletakan dalam laminar flow untuk proses perendaman (maserasi) dimana proses ini berlangsung selama 24 jam dalam suhu ruang. Selanjutnya ekstrak disaring dengan kertas saring whatman dan hasil saringan dipekatkan menggunakan alat rotary evaporator.

Pembuatan Media Agar

Media agar yang digunakan adalah *Trypticase soy agar* (TSA). Media agar dibuat dengan cara pertama-tama ditimbang sebanyak 10 gram kemudian dilarutkan dalam 250 ml akuades dalam botol Durant. Media kemudian dimasak di atas lampu bunsen sambil di goyang-goyang/aduk supaya media agar tercampur dan masak secara merata. Setelah mendidid media diangkat dan dimasukkan ke dalam autoclave untuk disterilkan pada temperature 121°C selama 30 menit. Pada saat yang bersamaan peralatan lain yang akan digunakan seperti cawan petri, kawat ose, tabung reaksi juga dimasukkan untuk disterilkan. Selesai sterilisasi media agar di keluarkan dan di letakan dalam laminar flow untuk didinginkan kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dengan ketebalan 5-6 mm. media kemudian didinginkan sampai tidak terdapat uap air lagi dan ditutup dengan selotip untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

Kultur Bakteri

Beberapa tahap dilakukan sebelum melakukan teknik kultur atau penanaman bakteri (inokulasi) :

- Ruang tempat penanaman bakteri harus bersih dan keadaannya harus steril agar tidak terjadi kesalahan dalam pengamatan penelitian atau percobaan dalam laboratorium.
- Inokulasi dilakukan dalam sebuah kotak kaca (*encast*) udarah yang lewat dalam kotak tersebut dilewatkan saringan melalui suatu jalan agar terkena sinar ultraviolet. Dalam hal ini menggunakan Laminar flow steril yang terlebih dahulu

dibiarkan *blower* dan sinar ultraviolet menyala dalam waktu 15-20 menit sebelum mengerjakan inokulasi.

- Ujung kawat inokulasi dibuat dari platina atau nikel ujungnya boleh lurus juga boleh berupa kolongan yang diameternya 3 mm.
- Dalam melakukan penanaman atau inokulasi bakteri, kawat ose terlebih dahulu dipijarkan dalam api nyala Bunsen, sedangkan sisa tangkai cukup dilewatkan nyala api, setelah dingin, kembali kawat ose disentuh dalam nyala api Bunsen. Biakan bakteri *Aeromonas hydrophila* diambil dari stok bakteri yang diperoleh dari Balai Budidaya Air Tawar Tatelu Minahasa Utara, diinokulasi dengan metode gores zigzag dengan kawat jarum ose steril yang telah dipijarkan dalam api Bunsen dilakukan pada media *Trypticase soy agar* (TSA) padat bentuk lempeng yang telah dibuat, selanjutnya diinkubasi pada incubator dengan suhu 28°C selama 24 jam. Bakteri yang telah dikultur dan tumbuh berupa koloni kemudian dibawa di laboratorium untuk melewati uji bakteriologi di Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Utara untuk diperiksa kembali untuk memastikan bahwa bakteri ini adalah bakteri *A. hydrophila*.

Uji Aktivitas Antibakteri

Proses pemindahan mikroba secara aseptik sangat membutuhkan ketelitian yang tinggi. Jika tidak, kesalahan dalam teknik sedikit saja akan mempengaruhi semua hasil

pengamatan. Oleh karena itu, dalam melakukan pemindahan mikroba dari media yang lama menuju media yang baru harus mengetahui teknik dan menjaga kesterilan bahan maupun alat yang digunakan. Proses penanaman kembali mikroba ke dalam media baru disebut inokulasi sehingga membutuhkan alat jarum inokulasi atau kawat ose untuk memindahkan bakteri tersebut.

Proses inokulasi bakteri membutuhkan ruangan yang bersih dan steril. Teknik sterilisasi yang dilakukan pada saat penelitian yaitu pemijaran dengan api Bunsen langsung. Teknik pemijaran tersebut dilakukan dengan cara membakar alat jarum inokulasi atau kawat ose secara langsung pada api yang dihasilkan oleh spiritus. Teknik tersebut dapat menyebabkan mikroorganisme yang menempel pada kawat ose akan terbunuh dan steril. Sterilisasi juga diberlakukan pada area tempat perlakuan mikroorganisme dan tangan dengan cara menyemprotkan alkohol 70% secara merata sehingga mikroorganisme yang berada pada keduanya ikut terbunuh dan hasil percobaannya akan lebih akurat.

Uji aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi cakram (*disc diffusion method*). Kertas cakram berdiameter 6 mm dicelupkan dalam larutan ekstrak kemudian diletakkan dalam cawan petri yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri *A. hydrophila*. Cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28°C selama 24 jam.

Pengambilan Data

Data yang dikumpulkan yaitu diameter zona hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar

kertas cakram. Besarnya zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong (vernier kaliper). Control positif digunakan sebagai tolak ukur dalam menentukan kemampuan ekstrak menghambat bakteri. Hal ini dapat dilihat dari nilai zona bening yang dihasilkan ekstrak, jika nilai yang dihasilkan mendekati atau melebihi nilai control positif maka ekstrak berpotensi sebagai antibakteri.

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat dalam satuan mm dari masing-masing jenis ekstrak dan bahan pelarut dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan gambar, tabel maupun penjelasan dengan rangkayan kata-kata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran zona hambat dilakukan pada hari ketiga setelah cakram ekstrak ditanamkan pada media agar yang berisi bakteri *A. hydrophila*. Hasil pengukuran zona hambat ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Zona hambat (mm) ekstrak kemangi terhadap bakteri *A. hydrophila*

Pelarut	Zona Hambat (mm)	
	Ekstrak Daun	Ekstrak Batang
Alkohol 70%	-	-
Akuades	16,5	20,5

Ekstrak daun dan batang kemangi dengan pelarut alkohol 70 % tidak memperlihatkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Sebaliknyaapai 16,5 mm untuk daun dan 20,5 mm untuk batang. Dibandingkan dengan standar

baku zona penghambatan (Tabel 2), maka respon hambat dari kedua jenis ekstrak ini adalah kuat.

Tabel 2 Klasifikasi baku respon hambat pertumbuhan bakteri

Diameter zona hambat	Respon hambatan pertumbuhan bakteri
0	Tidak ada
< 5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
21 – 30 mm	Sangat kuat

Ekstrak akuades batang maupun daun kemangi terlihat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Kemampuan ini terjadi karena kemangi mengandung bahan-bahan bioaktif seperti minyak atsiri dengan eugenol sebagai komponen utama. Disamping itu, kemangi juga mengandung *flavon, apigenin, luteolin, flavon O-glukosida apigenin 7-O glukoronida, luteolin 7-O glukoronida, flavon C-glukosida orientin, molludistin* dan *asam ursolat*. Minyak atsiri kemangi memiliki aktifitas anti bakteri yang diukur berdasarkan zona hambat yang terbentuk dalam uji sensitifitas dengan metoda cakram (Moghaddam *et al.*, 2011). Hasil uji sensitifitas menunjukkan bahwa minyak esensial kemangi memperlihatkan aktifitas anti mikroba yang baik terhadap gram negative *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. MIC (minimum inhibition concentration) minyak kemangi terhadap bakteri *S. aureus* sebanyak 18 µg/ml, *Bacillus cereus* 18 µg/ml, *E. coli* 9 µg/ml, dan *P. aeruginosa* 9 µg/ml.

Kemangi juga mengandung bahan aktif linalool yang berfungsi sebagai

antimikroba (Moghaddam *et al.*, 2011). Selain itu daun kemangi berdasarkan hasil penelitian fitokimia memiliki kandungan flavonoid, glikosid, asam galat dan esternya, asam kafeat, dan minyak atsiri yang mengandung eugenol (70,5%) sebagai komponen utama.

KESIMPULAN

Ekstrak aquades kemangi dengan konsentrasi 200 mg/mL mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan aktivitas penghambatan termasuk dalam kategori kuat.

DAFTAR PUSTAKA

Bozin B. 2006. "Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils." J Agric food chem. Mar 8; 54 (5) : 1822-1828.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16506839/ordinalpos=1&itool=EntrezSys>
 tem2.PEntrez.Pudmed.Pudmed Resu
 ltsPanel.Pudmed_RVDocSum

Payung C, Tumbol RA, Manoppo H. 2017. Dietary ginger (*Zingiber officinale*) enhance resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. AACL Bioflux Vol. 10 (4): 962-968

Kusuma W. 2010. Efek Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Kerusakan Hepatosit Mencit Akibat Minyak Sawit Dengan Pemanasan Berulang. Skripsi, Fakultas Kedokteran

Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

- Muensch WC, Myron AR. 1978. Garden Spice and Wild Pot-Herbs. Ithaca, NY: Cornell University Press,.
- Moghaddam A, Shayegh J, Mikaili P, Sharaf J. 2011. Antimicrobial activity of essential oil extract of *ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(15): 3453-3456
- Stobart T. 1982. Herbs, Spices, and Flavorings. Woodstocks, NY: The Overlook Press.
- Sullivan C. 2009. Food For Thought: The Science, Culture, & Politics of Food in Spring 2009 in College Seminar 235
- Tewari D, Pandey H K, Sah A N, Meena H S, Manchanda A, Patni P. 2012. Pharmacognostical Biochemical and Element Investigation of *Ocimum basilicum* Plants available in Western Himalayas. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences. Vol 3 (2): 840-845
- Grieve M. 1971. A Modern Herbal; The Medicinal, Culinary, Cosmetic and Economic Properties, Cultivation and Folk-Lore of Herbs, Grasses, Fungi, Shrubs, & Trees with All Their Modern Scientific Uses. New York: Dover Publications
- Marentek GA, Manoppo H, Longdong SNJ. 2013. Kajian penggunaan bawang putih (*Allium sativum*) dalam meningkatkan respon imun non-spesifik dan pertumbuhan ikan nila

- (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Budidaya Perairan Vol. 1 No.1: 1-7
- Manoppo H, Kolopita MEF, Malatunduh R. 2016. Growth promoter effect of garlic(*Allium sativum*) on carp (*Cyprinus carpio* L). International Journal of PharmTech Research 9(4): 283-288
- Marwat KS, Khan MA, Rehman F, Akbari HA, Shoaid M, Shah AM. 2011. Interpretation and Medicinal Potential of Ar-Rehan (*Ocimum basilicum* L)- A Review. American-Eurasian J. Agric. & Environ Sci., 10 (4): 478-484
- Nahak G, Sahu RK. 2014. Immunomodulatory Activity Of Aqueous Leaf Extract Of *Ocimum basilicum* linn in *Clarias Batrachus*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol 6 (6): 443-440
- Nguyen L, Van Dongen W, DeBrucker I, DePooter H. 2008. High performance liquid chromatographic separation of naturally occurring esterch of phenolic acids. Journal of chromatography: Ageing research reviews 187: 181-1877.
- Nya EJ, Austin B. 2009. Use of ginger *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Disease 32: 971-977.
- Li X, Hedge IC. 1991. "Ocimum". In Flora of China Published by Science Press (Beijing) and Missouri Botanical Garden Press 17: 296.
- Sajadi S. 2006. Analysis of The Essential Oils Of Two Cultivated Basil (*Ocimum Basilicum* L.) From Iran. DARU Vol 14 No. 3: 128-130
- Politeo O, Jukic M, Milos M. 2007. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. Food Chem., 101 : 379-385.