

**PENGARUH MINYAK ATSIRI KEMANGI  
(*Ocimum basilicum* L.) PADA AKTIVITAS ERITROMISIN  
DAN TRIMETOPRIM-SULFAMETOKSAZOL TERHADAP  
*Salmonella thypi* SECARA *IN VITRO***

**NASKAH PUBLIKASI**



**Oleh:**

**JOKO PRAMONO  
K100 100 019**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2014**

**PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI**

**Berjudul:**

**PENGARUH MINYAK ATSIRI KEMANGI  
(*Ocimum basilicum* L.) PADA AKTIVITAS ERITROMISIN  
DAN TRIMETOPRIM-SULFAMETOKSAZOL TERHADAP  
*Salmonella thypi* SECARA *IN VITRO***

**Oleh:**

**JOKO PRAMONO  
K100 100 019**

**Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada tanggal : 10 Januari 2014**



**Penguji :**

1. Suprpto, M.Sc., Apt.

2. Tanti Azizah Sujono, M.Sc., Apt.

3. Ika Trisharyanti D. K., M.Farm, Apt.

4. Rima Munawaroh, M.Sc., Apt.

**PENGARUH MINYAK ATSIRI KEMANGI  
(*Ocimum basilicum* L.) PADA AKTIVITAS ERITROMISIN  
DAN TRIMETOPRIM-SULFAMETOKSAZOL TERHADAP *Salmonella thypi*  
SECARA *IN VITRO***

**THE EFFECT OF BASIL ESSENTIAL OIL (*Ocimum basilicum* L.) ON THE  
ACTIVITIES OF ERYTHROMYCIN AND TRIMETHOPRIM-  
SULFAMETHOXAZOLE TOWARD *Salmonella thypi* *IN VITRO***

**Joko Pramono, Ika Trisharyanti D.K, dan Rima Munawaroh**

*Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta,  
Jl A Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102  
#E-mail: joepramono16@gmail.com*

**ABSTRAK**

*Demam typhoid merupakan masalah kesehatan di negara berkembang seperti Indonesia. Adanya kombinasi antibiotik dan zat aktif tanaman merupakan konsep baru dalam pengobatan dan dapat menghasilkan efek yang menguntungkan (sinergis atau additif) atau merugikan (antagonis). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek penambahan minyak kemangi pada aktivitas antibakteri eritromisin atau trimetoprim-sulfametoksazol terhadap *Salmonella thypi*. Batang dan daun kemangi didestilasi dengan menggunakan metode uap dan air. Dilakukan uji sifat fisik terhadap minyak kemangi yaitu uji indeks bias dan berat jenis. Uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak kemangi dan antibiotik dilakukan dengan metode disk difusi. Disk berisi minyak kemangi dan disk antibiotik (eritromisin dan trimetoprim-sulfametoksazol) diletakkan pada media yang sudah ditanami bakteri secara sejajar. Jarak antara disk minyak kemangi dan antibiotik adalah penjumlahan dari zona hambat minyak kemangi dari uji pendahuluan dan zona hambat antibiotik dari uji sensitifitas. Hasil dinyatakan sinergis jika terjadi pertemuan atau peningkatan dari dua zona hambat, additif jika zona hambat tidak mengalami penurunan, dan antagonis jika zona hambat menjadi lebih kecil. Uji sifat fisik untuk indeks bias diperoleh 1,488 nD dan berat jenis 0,9292 g/mL. Hasil uji kombinasi menunjukkan efek yang additif pada kombinasi minyak kemangi dengan eritromisin sedangkan kombinasi minyak kemangi dengan trimetoprim-sulfametoksazol menghasilkan efek yang antagonis.*

**Kata kunci:** Antibakteri, Kombinasi, *Ocimum basilicum* L., *Salmonella thypi*, Eritromisin, Trimetoprim-Sulfametoksazol.

**ABSTRACT**

Typhoid fever was a public health problem in developing countries such as Indonesia. Combination of antibiotics and the active substances of plant was a new treatment concept and might has beneficial effects (synergistic or additive) or adverse effect (antagonist). This study was conducted to determine the effect of basil essential oils addition on the antibacterial activity of erythromycin or trimethoprim-sulfamethoxazole against *Salmonella thypi*. Isolation of essential oil of stems and basil leaves used water and steam distillation method. The properties physical test of basil essential oil are the refractive index and density. Antibacterial activity test from combination of basil essential oil and antibiotics is done by disk diffusion method. Disk of basil essential oil and disk antibiotics (erythromycin and trimethoprim-sulfamethoxazole) is placed paralelly on the media. The distance between two disk is the sum of inhibition zone basil essential oil obtained from the preliminary test and the antibiotic inhibition zones from sensitivity test. Synergistic results is shown if there is a meeting or enhance of the two zones of inhibition, additive is inhibition zone not reduced, and antagonistic is if the inhibition zone becomes smaller. The physical properties of the refractive index is 1.488 nD and density is 0.9292 g / mL. The results showed the combination erythromycin with basil essential oil had additive effects, but a combination of trimethoprim-sulfamethoxazole with basil essential oil had antagonistic effect.

**Key word:** Antibacteria, Combination, *Ocimum basilicum* L., *Salmonella thypi*, Erythromycin, Trimethoprim-sulfametoksazol.

## **PENDAHULUAN**

Infeksi berawal dari masuknya mikroba ke dalam tubuh manusia sehingga menyebabkan penyakit (WHO, 2011). Demam thypoid merupakan penyakit infeksi yang dapat menular dan saat ini masih menjadi masalah kesehatan di negara berkembang seperti Indonesia (Saraswati *et al.*, 2012). Demam thypoid disebabkan oleh infeksi *Salmonella thypi*. Khan *et al.*, (2004) mengemukakan beberapa antibiotik yang dapat digunakan pada pengobatan demam thypoid antara lain : *first-line antibiotic* (kloramfenikol, trimetoprim-sulfametaksazol, amoksisilin), *second-line antibiotic* dari golongan floroquinolon (siprofloksasin, norfloksasin, pefloksasin, ofloksasin, levofloksasin), sefalosporin (seftriakson, sefotaksim, sefiksim), dan antibiotik lain (aztreonam, azitromisin).

Sebagian minyak atsiri atau ekstrak tanaman mampu menghasilkan aktivitas daya bunuh baik terhadap bakteri yang sensitif maupun yang telah resisten terhadap antibiotik (Shafique *et al.*, 2012 dan Imran *et al.*, 2012). Minyak atsiri kemangi (*Ocimum basilicum* L.) mampu menghambat pertumbuhan dan membunuh beberapa bakteri patogen diantaranya adalah *Salmonella paratyphimurium* dan *Salmonella typhimurium* (Adeola *et al.*, 2012). Minyak kemangi dengan menggunakan metode disk difusi terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* mampu menghasilkan zona hambat lebih besar dari streptomisin (Shafique *et al.*, 2012).

Adanya kombinasi antibiotik dan zat aktif tanaman merupakan konsep baru dalam pengobatan dan dapat menghasilkan efek yang menguntungkan (sinergis atau additif) atau merugikan (antagonis) (Imran *et al.*, 2012). Efek yang sinergis telah ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak metanol dan fraksi diklorometan *Ocimum gratissimum* dengan antibiotik golongan aminoglikosida (gentamisin, kanamisin, amikasin, dan neomisin) terhadap *E. coli* 27 dan *S. aureus* 358 (Braga *et al.*, 2011). Keuntungan yang dapat diperoleh dari kombinasi obat diantaranya adalah meningkatkan efisiensi, mengurangi efek yang tidak diinginkan, peningkatan stabilitas atau bioavailabilitas, dan memperoleh efek terapi yang memadai dengan dosis yang relatif kecil (Chanda dan Rakholiya, 2011). Berdasar latar belakang diatas maka menarik dilakukan penelitian untuk mengetahui efek kombinasi minyak kemangi dan antibiotik.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : seperangkat alat destilasi, piknometer, refraktometer hand type N-3, alat-alat gelas (*Iwaki-Pyrex*), neraca analitik

(*Precisa*), mikropipet, LAF (*Astari Niagara*), oven (*Memmert*), autoklaf (*My Life*), shaker inkubator (*Excella 24*) dan inkubator (*Memmert*).

## **Bahan**

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah tanaman kemangi yang diperoleh dari Boyolali, bakteri *Salmonella thypi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, akuades, disk antibiotik (sefalotin, trimetoprim-sulfametoksazol, streptomisin, kloramfenikol, ampisilin, tetrasiklin, dan eritromisin), disk kosong, etil asetat, media BHI (*Oxoid*), MH (*Oxoid*), KIA (*Oxoid*), LIA (*Oxoid*), MIO (*Oxoid*), larutan salin (NaCl), dan cat gram A, B, C, D.

## **Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman kemangi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Tujuan determinasi ini adalah untuk memastikan kebenaran tanaman kemangi dengan buku acuan *Flora of Java: Spermatophytes only* Volume 2 karangan Backer dan Van Den Brink (1965).

### **2. Destilasi**

Pengambilan minyak atsiri kemangi dilakukan dengan metode uap dan air. Tanaman kemangi yang sudah dipotong-potong diletakkan diatas angsang, dengan jarak beberapa sentimeter diatas permukaan air dalam ketel penyulingan. Penyulingan dilakukan dengan memanaskan ketel dan mengalirkan air pada alat pendingin, penyulingan dihentikan sampai minyak atsiri tidak menetes lagi. Minyak atsiri yang dihasilkan dalam bentuk uap, karena itu perlu pendinginan agar uap kembali menjadi cairan dan tertampung dalam wadah penampung. Perlu dilakukan pengaturan suhu penyulingan agar minyak atsiri tidak rusak bila suhu terlalu tinggi atau jika suhu rendah maka destilasi akan lama dan tidak efisien. Minyak atsiri yang diperoleh dipisahkan dari bagian air dengan corong pisah, kemudian disaring melewati natrium sulfat anhidrat yang sudah di oven selama 1 jam pada suhu 100° C untuk menghilangkan sisa-sisa air. Sesuai dengan sifat minyak atsiri yang mudah menguap, maka minyak atsiri yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup rapat.

### **3. Uji Sifat Fisik Minyak Atsiri**

Sifat fisik minyak atsiri yang ditetapkan meliputi uji berat jenis minyak atsiri dan uji indeks bias. Penentuan sifat fisik minyak atsiri ini diujikan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### 4. Uji aktivitas antibakteri

##### a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu disterilisasi. Alat-alat gelas disterilisasi dengan oven pada suhu 170° C selama 1 jam dan bahan-bahan disterilisasi pada suhu 120° C selama 20 menit dengan menggunakan autoklaf. Sedangkan *ose* disterilisasi dengan cara dibakar langsung pada bunsen dimulai dari pangkal hingga ujung.

##### b. Pembuatan media

Media BHI dan media MH yang digunakan telah tersedia dalam kemasan, sehingga pembuatannya cukup dengan melarutkan media dalam akuades dengan bantuan pemanasan. Banyaknya media yang ditimbang untuk tiap literanya adalah : media MH 38 gram dan BHI 37 gram.

##### c. Penyiapan stok bakteri

Bakteri *Salmonella thypi* diambil dengan *ose* steril kemudian digoreskan secara *streak plate* pada media MH (*Mueller Hinton*). Diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Bakteri yang tumbuh disimpan pada suhu 4° C untuk stok.

##### d. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Salmonella thypi* yang sudah dibiakkan pada media Mueller Hinton (MH) selama 24 jam, diambil 3-4 koloni disuspensikan dalam media BHI steril 5 mL, kemudian di *shake* inkubator pada suhu 37° C selama 2 - 6 jam sampai didapatkan kekeruhan yang sama atau melebihi standar McFarland. Suspensi bakteri ditambah larutan salin steril hingga konsentrasi sama dengan McFarland ( $1,5 \times 10^8$  CFU/mL).

##### e. Identifikasi *Salmonella thypi*

###### 1) Pengecatan Gram

Koloni bakteri diletakkan pada gelas obyek yang sudah dipanasi dengan api bunsen. Cat gram A berlebih ditambahkan, ditunggu 1 menit, sisa cat dibilas dengan air mengalir. Kemudian cat gram B ditambahkan, didiamkan selama 1 menit, sisa cat dibilas dengan air mengalir. Ditambahkan Cat gram C sampai warna zat tepat dilunturkan, ditunggu selama 5-10 detik, kemudian dibilas dengan air. Langkah terakhir ditambahkan cat gram D didiamkan selama 30 detik, dibilas dengan air kemudian dikeringkan. Hasil pengecatan dilihat pada mikroskop dengan bantuan minyak imersi pada perbesaran 1000 kali.

## 2) Uji biokimiawi

Bakteri ditanam pada media biokimiawi KIA, LIA, dan MIO kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Hasil penanaman dievaluasi sesuai sifat bakteri *Salmonella thypi* pada media biokimiawi tersebut.

### f. Uji sensitifitas bakteri *Salmonella thypi*

Suspensi bakteri dengan konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL diambil 300  $\mu$ L, ditanam pada media MH dan diratakan dengan *spreader glass* steril. Disk antibiotik (sefalotin, trimetoprim-sulfametoksazol, streptomisin, kloramfenikol, ampisilin, tetrasiklin, dan eritromisin) diletakkan di atasnya. Petri diinkubasi pada suhu 37° C selama 18 - 24 jam diameter zona hambat diukur dan dicocokkan dengan standar resistensi masing-masing antibiotik.

### g. Penyiapan larutan minyak atsiri

Seri konsentrasi minyak atsiri dibuat dari minyak atsiri murni yang diencerkan dengan pelarut etil asetat. Masing-masing seri konsentrasi dibuat 0,5 mL. Seri konsentrasi yang dibuat yaitu 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 15%, 25%, 35%, dan 45% v/v.

### h. Uji pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mencari konsentrasi minyak atsiri yang mempunyai diameter zona hambat  $\geq 10$  mm dan untuk mengetahui diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi minyak atsiri kemangi. Masing-masing seri konsentrasi minyak kemangi diambil 15  $\mu$ L dan diteteskan pada disk kosong, kemudian diletakkan pada media MH yang sudah ditanami bakteri. Petri diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam, kemudian diukur diameter zona hambatnya menggunakan penggaris.

### i. Uji aktivitas antibakteri metode difusi

Cawan petri steril diisi dengan media MH sebanyak 20 mL dan didiamkan kurang lebih 30 menit sampai mengeras. Suspensi bakteri dengan konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL diambil sebanyak 300  $\mu$ L dan diratakan dengan *spreader glass* steril pada permukaan media MH kemudian didiamkan selama 3 - 15 menit. Sebanyak 15  $\mu$ L minyak atsiri sesuai dengan hasil uji pendahuluan diteteskan pada disk kosong, kemudian diletakkan pada media MH bersama dengan disk eritromisin atau trimetoprim-sulfametoksazol secara sejajar. Jarak antara disk minyak atsiri dan antibiotik adalah penjumlahan dari diameter zona hambat minyak atsiri yang diperoleh dari uji pendahuluan dan diameter zona hambat antibiotik dari uji sensitifitas. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam, dengan posisi terbalik (media agar diatas) dan tidak ditumpuk lebih dari lima cawan, kemudian diamati diameter zona hambatnya (Verma, 2007).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **1. Determinasi Tanaman**

Determinasi bertujuan untuk memastikan kebenaran tanaman kemangi sehingga menghindarkan kesalahan dalam pengumpulan bahan penelitian. Buku acuan yang digunakan dalam determinasi tanaman kemangi adalah *Flora of Java: Spermatophytes only* Volume 2 karangan Backer dan Van den Brink (1965).

Determinasi tanaman kemangi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan benar tanaman *Ocimum basilicum* L (kemangi) yang termasuk dalam suku *Lamiaceae*.

### **2. Minyak Atsiri Batang dan Daun Kemangi**

Ekstraksi minyak atsiri kemangi dilakukan dengan metode destilasi uap dan air, dipilih metode ini karena lebih menghindarkan dari kemungkinan hidrolisis dan pirolisis (Sastrohamidjojo, 2004). Bahan yang digunakan dalam destilasi berupa batang dan daun kemangi segar yang diperoleh dari daerah Boyolali. Digunakan simplisia segar karena minyak atsiri kemangi yang terkandung dalam simplisia segar lebih banyak daripada simplisia kering. Batang dan daun kemangi dipotong-potong untuk memperkecil ukuran sehingga mempermudah lepasnya minyak atsiri setelah ditembus oleh uap. Adanya pendingin diperlukan untuk mengubah minyak atsiri yang berbentuk uap menjadi cair. Sebanyak 1 kg batang dan daun kemangi segar menghasilkan 1,04 mL minyak atsiri (rendemen minyak atsiri kemangi sebesar 0,0967 % <sup>b</sup>/<sub>b</sub>).

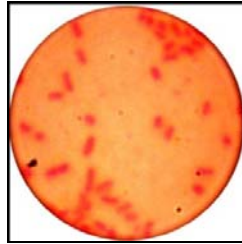
Uji sifat fisik minyak atsiri dilakukan terhadap dua parameter yaitu indeks bias dan berat jenis (BJ). Dari hasil pengujian yang dilakukan di LPPT UGM didapat nilai indeks bias 1,488 nD dan berat jenis 0,9292 g/mL, sedangkan standard indeks bias dan berat jenis minyak atsiri kemangi Ketaren (1987) adalah 1,49250 - 1,49597 nD dan 0,9246 - 0,9303 g/mL maka nilai indeks bias tidak sesuai tetapi berat jenis minyak atsiri sesuai. Namun bila dibandingkan dengan Khelifa *et al.*, (2012) yang mengekstraksi minyak atsiri kemangi dari daerah Algeria dan dipanen pada bulan Maret, dengan menggunakan metode destilasi air dan bahan berupa simplisia kering diperoleh nilai indeks bias berkisar  $1.466 \pm 0.04$  atau 1,426 - 1,506 dan berat jenis  $0.93 \pm 0.02$  atau 0,9100 - 0,9500 sehingga indeks bias dan berat jenis yang diperoleh masuk dalam standar tersebut.

### **3. Identifikasi Bakteri**

Identifikasi bakteri bertujuan untuk memastikan kebenaran bakteri yang digunakan. Ada dua uji yang digunakan dalam identifikasi *Salmonella thypi* yaitu pengecatan Gram



dan uji biokimiawi. Hasil pengecatan Gram menunjukkan *Salmonella thypi* berbentuk batang dan berwarna merah yang berarti termasuk bakteri Gram negatif (Gambar 1). Bakteri Gram negatif mempunyai lapisan dinding sel yang mengandung kadar lipid dalam jumlah yang besar. Lapisan lipid ini pada pencucian dengan cat gram C yang mengandung alkohol akan larut dan pori-porinya membesar sehingga zat warna yang sudah diserap mudah dilepaskan. Penambahan cat Gram D akan diikat oleh bakteri sehingga bakteri berwarna merah.



**Gambar 1.** Hasil pengecatan *Salmonella thypi* dengan menggunakan cat Gram ABCD.

Uji biokimiawi terhadap *Salmonella thypi* dilakukan dengan menggunakan media KIA, LIA, dan MIO. Bakteri ditusukkan pada bagian tengah tabung, tidak sampai menyentuh dasar tabung. Pada media KIA didapat hasil pada bagian miring berwarna merah yang menunjukkan reaksi alkali, bagian tegak berwarna kuning menunjukkan reaksi asam, dan pada daerah tusukan berwarna hitam yang menunjukkan bakteri mampu membentuk H<sub>2</sub>S. Pada media LIA didapat hasil media berwarna ungu yang menunjukkan dekarboksilasi lisin. Pada media MIO terjadi perubahan dari warna coklat abu-abu menjadi ungu yang menunjukkan adanya reaksi dekarboksilasi ornitin. Motilitas yang positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri melewati media (Gambar 2). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan sesuai dengan literatur untuk sifat biokimiawi *Salmonella thypi* pada media KIA, LIA, dan MIO (Tabel 1)

**Tabel 1. Hasil identifikasi biokimiawi *Salmonella thypi***

Media	Karakter <i>Salmonella thypi</i> <sup>a</sup>	Hasil Uji	Keterangan Hasil
KIA	Miring	K	Warna merah
	Tegak	A	Warna kuning
LIA	+	+	Warna ungu
MIO	+	+	Warna ungu

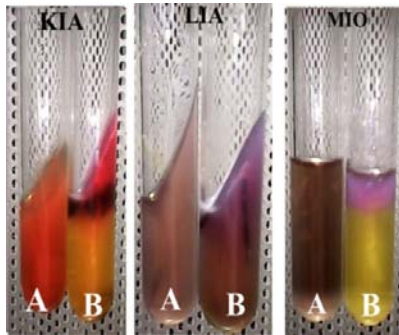
<sup>a</sup>WHO (2010)

K = reaksi alkali (warna merah)

A = reaksi asam (warna kuning)

LIA = dekarboksilasi lisin positif ditunjukkan dengan warna ungu

MIO positif ditunjukkan dengan warna ungu pada media



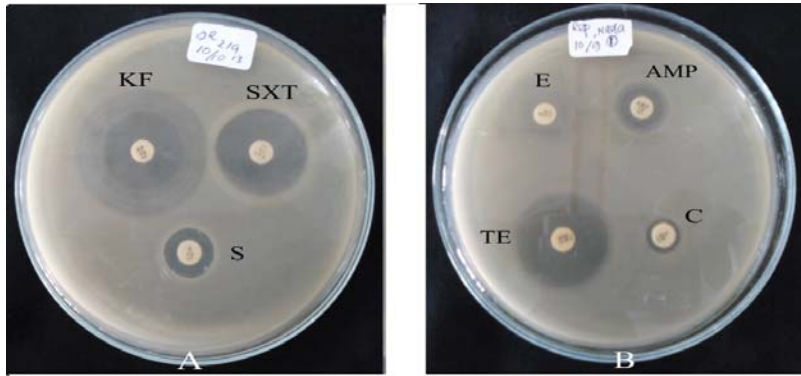
Gambar 2. Hasil uji biokimiawi dengan menggunakan media KIA, LIA, MIO terhadap *Salmonella thypi* A (kontrol), B (hasil uji).

#### 4. Uji Sensitifitas Bakteri

Uji sensitifitas dilakukan untuk mengetahui sifat bakteri terhadap antibiotik. Bakteri *Salmonella thypi* dilakukan uji sensitifitas terhadap beberapa antibiotik yaitu sefalotin (KF) 30 µg, trimetoprim-sulfametoksazol (SXT) 25 µg, streptomisin (S) 10 µg, kloramfenikol (C) 30 µg, ampisilin (AMP) 10 µg, tetrasiklin (TE) 30 µg, dan eritromisin (E) 15 µg. Hasil uji terhadap bakteri *Salmonella thypi* didapatkan zona hambat dari masing-masing antibiotik berturut-turut  $20,67 \pm 1,15$  mm,  $31,33 \pm 1,26$  mm,  $13,67 \pm 0,58$  mm,  $20 \pm 6,93$  mm,  $24,83 \pm 0,76$  mm,  $20 \pm 1,80$  mm,  $8,83 \pm 0,29$  mm. Hasil uji sensitifitas tersebut menunjukkan bahwa *Salmonella thypi* resisten terhadap eritromisin, intermediet terhadap streptomisin, dan masih sensitif terhadap antibiotik yang lain sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri *Salmonella thypi* masih bersifat sensitif (CLSI, 2007) (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji sensitifitas *Salmonella thypi*

Disk Antibiotik	Diameter zona hambat (mm)	Interpretasi <sup>b</sup>			Keterangan	Hasil
		Resisten	Intermediet	sensitif		
KF	$20,67 \pm 1,15$	$\leq 16$	15 - 17	$\geq 18$	Sensitif	Sensitif
SXT	$31,33 \pm 1,26$	$\leq 10$	11 - 15	$\geq 16$	Sensitif	
S	$13,67 \pm 0,58$	$\leq 11$	12 - 14	$\geq 15$	Intermediet	
C	$20 \pm 6,93$	$\leq 12$	13 - 17	$\geq 18$	Sensitif	
AMP	$24,83 \pm 0,76$	$\leq 13$	14 - 18	$\geq 17$	Sensitif	
TE	$20 \pm 1,80$	$\leq 11$	12 - 14	$\geq 15$	Sensitif	
E	$8,83 \pm 0,29$	$\leq 13$	14 - 22	$\geq 23$	Resisten	
KF	: sefalotin 30 µg			AMP	: ampisilin 10 µg	
SXT	: trimetoprim-sulfametoksazol 25 µg			TE	: tetrasiklin 30 µg	
S	: streptomisin 10 µg			E	: eritromisin 15 µg	
C	: kloramfenikol 30 µg			<sup>b</sup>	: CLSI (2007)	



**Gambar 3. Hasil uji sensitifitas *Salmonella thypi* terhadap sefalotin, trimetoprim-sulfametoksazol, streptomisin (A) dan terhadap kloramfenikol, ampisilin, tetrasiklin, dan eritromisin (B).**

### 5. Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kemangi

Uji pendahuluan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri kemangi terhadap *Salmonella thypi* dan konsentrasi minyak atsiri yang menghasilkan diameter zona hambat  $\geq 10$  mm. Konsentrasi minyak atsiri yang diuji yaitu 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 15%, 25%, 35% dan 45% v/v dalam pelarut etil asetat, dan minyak atsiri murni. Diameter zona hambat rata-rata dari setiap konsentrasi berturut-turut adalah  $8,67 \pm 0,58$  mm;  $9 \pm 0,00$  mm;  $8,67 \pm 0,58$  mm;  $9,50 \pm 0,00$  mm;  $9,33 \pm 0,58$  mm;  $9,17 \pm 1,61$  mm;  $9,17 \pm 0,29$  mm;  $9 \pm 0,50$  mm dan  $11 \pm 0,70$  mm. Diameter zona hambat yang paling besar didapat pada minyak atsiri murni, semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri tidak menunjukkan peningkatan pada diameter zona hambatnya. Diameter zona hambat pada setiap seri konsentrasi kurang lebih sama dengan zona hambat pelarut yang digunakan yaitu etil asetat (Tabel 3). Dari hasil uji pendahuluan maka yang akan digunakan dalam uji aktivitas kombinasi dengan antibiotik adalah minyak atsiri murni.

**Tabel 3. Hasil uji pendahuluan seri konsentrasi minyak atsiri kemangi terhadap *Salmonella thypi***

Zat uji	Diameter zona hambat (rata-rata $\pm$ SD mm)
Konsentrasi 2,5(% v/v)	$8,67 \pm 0,58$
Konsentrasi 5 (% v/v)	$9 \pm 0,00$
Konsentrasi 7,5 (% v/v)	$8,67 \pm 0,58$
Konsentrasi 10 (% v/v)	$9,50 \pm 0,00$
Konsentrasi 15 (% v/v)	$9,33 \pm 0,58$
Konsentrasi 25 (% v/v)	$9,17 \pm 1,61$
Konsentrasi 35 (% v/v)	$9,17 \pm 0,29$
Konsentrasi 45 (% v/v)	$9 \pm 0,50$
Minyak atsiri murni	$11 \pm 0,70$
Kontrol negatif etil asetat	$7 \pm 0,29$

### 6. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Dan Antibiotik

Uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri kemangi dengan antibiotik dilakukan dengan menggunakan metode disk difusi Verma (2007), disk yang berisi minyak

atsiri murni diletakkan dalam satu cawan bersama dengan disk antibiotik dengan jarak sama dengan penjumlahan diameter zona hambat minyak atsiri dan antibiotik. Zona hambat disk antibiotik yang diperoleh dari uji sensitifitas untuk disk eritromisin adalah  $8,83 \pm 0,29$  mm dan trimetoprim-sulfametoksazol  $31,33 \pm 1,26$  mm, zona hambat minyak atsiri kemangi yang diperoleh dari uji pendahuluan  $11 \pm 0,7$  mm. Jadi penempatan antara disk minyak atsiri dengan eritromisin berjarak  $11 + 8,83 = 19,83$  mm (20 mm), sedangkan jarak antara disk minyak atsiri dengan disk trimetoprim-sulfametoksazol adalah  $11 + 31,33 = 42,33$  mm (42 mm). Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi dilihat dari zona hambat yang terbentuk antara kedua disk.

Kombinasi eritromisin dan minyak atsiri kemangi menunjukkan efek additif karena dari percobaan menunjukkan zona hambat dari kedua disk tidak saling berhubungan dan besarnya zona hambat masih sama bila dibandingkan dengan tanpa kombinasi (Tabel 4, Gambar 4A). Kombinasi trimetoprim-sulfametoksazol dan minyak atsiri kemangi menghasilkan efek yang antagonis hal ini ditunjukkan dengan zona hambat disk trimetoprim-sulfametoksazol yang lebih kecil bila dibandingkan tanpa kombinasi, yaitu dari  $31,33 \pm 1,26$  mm menjadi  $14 \pm 1,73$  mm (Tabel 5, Gambar 4B).

**Tabel 4. Hasil kombinasi minyak atsiri murni dengan eritromisin**

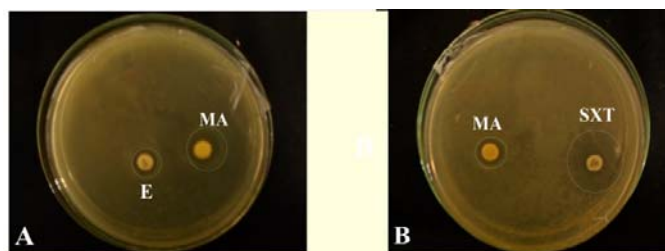
Diameter zona hambat tunggal (mm)		Diameter zona hambat kombinasi (mm)	
E	MA	E	MA
$8,83 \pm 0,29$	$11 \pm 0,7$	$8,67 \pm 0,58$	$13,17 \pm 0,76$

Keterangan : E (eritromisin), MA (minyak atsiri kemangi murni)

**Tabel 5. Hasil kombinasi minyak atsiri murni dengan trimetoprim-sulfametoksazol**

Diameter zona hambat tunggal (mm)		Diameter zona hambat kombinasi (mm)	
SXT	MA	SXT	MA
$31,33 \pm 1,26$	$11 \pm 0,7$	$14 \pm 1,73$	$12,17 \pm 1,04$

Keterangan : SXT (Trimetoprim-sulfametoksazol), MA (minyak atsiri kemangi murni)



**Gambar 4. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri kemangi dan eritromisin (A), minyak atsiri dan trimetoprim sulfametoksazol (B).**

Eritromisin bekerja dengan menghambat sintesis protein sel bakteri dan trimetoprim-sulfametoksazol menghambat sintesis DNA (Kohanski *et al.*, 2010). Kandungan minyak atsiri *Ocimum sp.* seperti eugenol, carvacrol, metil eugenol, dan caryophyllene dianggap senyawa yang bertanggung jawab dalam aktivitas antimikrobia

(Singh *et al.*, 2010). Eugenol merupakan komponen yang paling banyak terkandung dalam minyak atsiri kemangi. Suppakul *et al* (2003) melaporkan bahwa komponen utama minyak atsiri *Ocimum basilicum* L. di Indonesia adalah eugenol. Mekanisme aktivitas antibakteri dari eugenol adalah dengan menghambat enzim amilase dan protease dari bakteri sehingga akan mengganggu sintesis protein bakteri (Phantonga *et al.*, 2013).

Bassole dan Juliani (2012) melaporkan efek sinergis kombinasi thymol dan carvacrol dari minyak atsiri *Ocimum basilicum* L. terhadap *Salmonella thypi* dapat disebabkan karena mekanisme kerjanya yang sama. Efek additif merupakan efek yang menguntungkan dari kombinasi obat seperti halnya dengan efek sinergis. Mekanisme efek additif dari eritromisin dan minyak atsiri kemangi diduga disebabkan karena aksinya yang sama dalam menghambat sintesis protein bakteri.

Belum banyak penelitian yang menjelaskan tentang mekanisme efek antagonis. Efek antagonis bisa terjadi antara agen bakteriostatik dan bakterisid misalnya antara clindamycin yang bersifat bakteriostatik dan vancomycin yang bersifat bakterisid (Booker *et al.*, 2004). Kombinasi antara kloramfenikol yang bersifat bakteriostatik dan ofloksasin yang bersifat bakterisid juga menghasilkan efek yang antagonis (Wood *et al.*, 2012). Trimetoprim-sulfametoksazol bekerja dengan menghambat sintesis DNA dan bersifat bakterisid sedangkan minyak atsiri kemangi bekerja dengan menghambat sintesis protein sama seperti eritromisin yang bersifat bakteriostatik. Efek antagonis antara trimetoprim-sulfametoksazol dan minyak atsiri kemangi diduga disebabkan karena trimetoprim-sulfametoksazol yang bersifat bakterisid dan minyak atsiri kemangi bersifat bakteriostatik.

## **KESIMPULAN**

Uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan eritromisin didapatkan hasil additif, sedangkan kombinasi minyak atsiri kemangi dengan trimetoprim-sulfametoksazol hasilnya antagonis.

## **SARAN**

Sebaiknya dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri kombinasi antibiotik eritromisin dan trimetoprim-sulfametoksazol dengan menggunakan metode dilusi.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Adeola, S. A., Folorunso, O. S., & Amisu, K. O., 2012, Antimicrobial Activity of *Ocimum basilicum* and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of *Salmonella typhimurium*, *Research Journal of Biology*, 2 (5), 138-144.
- Backer, C.A. & Van Den Brink R.C.B., 1965, *Flora of Java: Spermatophytes Only* Volume II, N. V. P., Noordhoff-Groningen-The Netherlands.

- Bassole, I. H. N. & Juliani, H. R., 2012, Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties, *Molecules*, 17, 3989-4006.
- Booker, B. M., Stahl, L., & Smith, P. F., 2004, Combination of Vancomycin and Clindamycin Against *Staphylococcus aureus*, *The Journal of Applied Research*, 4 (3), 385-395.
- Braga, L. K. A., Macedo, A. K. C., Cunha, A. A., Silva, F. L., Santoz, F. A. V., Souza, C. E. S., *et al.*, 2011, Potentiation of In Vitro Activity by *Ocimum gratissimum* L., *African Journal of Pharmacy And Pharmacology*, 5 (19), 2145-2149.
- Chanda, S. & Rakholiya, K., 2011, Combination Therapy: Synergism Between Natural Plant Extracts and Antibiotics Against Infectious Diseases, *Formatex*, 520-523.
- CLSI, 2007, *Performace Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing: Seventeenth Informational Supplement*, 27 (1), 32-38, Pensiylvania, Clinical And Laboratory Standard Institute.
- Imran, M., Lawrence, R., Alam, M. N., Shariq, M., & Kumar, E. J., 2012, Synergistic Effect of *Ocimum sanctum* Extract and Antibiotics on Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Isolates from Clinical Specimens, *Journal of Recent Advances in Applied Sciences*, 27, 99-107.
- Ketaren, S., 1987, *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*, Jakarta, Penerbit Balai Pustaka.
- Khan, A. M., Yousaf, M. N., & Mahmood, T., 2004, Current Trends in The Management of Typhoid Fever, *Gomal Journal of Medical Sciences*, 2 (2), 50-63.
- Khelifa, L. J., Brada., Brahmi, F., Achour, D., Fauconnier, M. L., & Lognay, G., 2012, Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Ocimum basilicum* Leaves from the Northern Region of Algeria, *Topclass Journal of Herbal Medicine*, 1 (2), 53-58.
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J., 2010, How Antibiotics Kill Bacteria: From Targets to Networks, *Nature Reviews Microbiology*, 8, 423-425.
- Phanthonga, P., Lomarat,P., Chomnawangb, M. T., & Bunyaphatsaraa, N., 2013, Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Active Components From Thai Spices Against Foodborne Pathogens, *Science Asia*, 39, 472-476.
- Saraswati, N. A., Junaidi A. R., & Ulfa, M., 2012, Karakteristik Tersangka Demam Tifoid Pasien Rawat Inap di Rumah Sakit Muhammadiyah Palembang Periode Tahun 2010, *Syifa' Medika*, 3, 1-11.
- Sastrohamidjojo, H., 2004, *Kimia Minyak Atsiri*, 9-10, Yogyakarta, Gadjah Mada University Press.
- Shafique, M., Khan, S. J., & Khan, N. H., 2011, Study of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Sweet Basil (*Ocimum basilicum*) Essential Oil, *Pharmacology online* 1, 105-111.

- Singh, V., Amdekar, S., & Verma, O., 2010, *Ocimum sanctum* (tulsi): Biopharmacological Activities, *Webmed Centra Pharmacology*, 1 (10), 1-7.
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., & Bigger, S. W., 2003, Antimicrobial Properties of Basil and its Possible Application in Food Packaging, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 51 (11), 3197–3207.
- Verma, P., 2007, Method for Determining Bactericidal Activity and Antimicrobial Interaction: Synergy Testing, Time-Kill Curves, and Population Analysis, In: Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A. C., *Antimicrobial Suceptibility Testing Protocols*, 283-285, CRC Press, Baca Raton.
- WHO, 2010, *Laboratory Protocol: Biochemical Identification of Salmonella and Shigella Using an Abbreviated Panel of Tests*, 1-21, Atlanta, World Health Organization .
- WHO, 2011, *Use Antibiotics Rationally*, 1-4, Regional Office For South-East Asia, World Health Organization.
- Wood, K., Nishida, S., Sontag, E. D., & Cluzel, P., 2012, Mechanism-Independent Method for Predicting Response to Multidrug Combinations in Bacteria, *PNAS Early Edition*, 1-6.