

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK POLAR DAN NON POLAR BIJI SELASIH (*Ocimum sanctum* Linn)

[Antioxidant and Antibacterial Activities from Polar and Non Polar Basil (*Ocimum sanctum* Linn) Seed Extracts]

Agustina D. R. Nurcahyanti^{1)*}, Lusiawati Dewi²⁾, dan Kris H. Timotius³⁾

¹⁾ Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Pelita Harapan

²⁾ Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Krida Wacana

³⁾ Fakultas Kedokteran Universitas Krida Wacana, Jakarta

Diterima 19 Maret 2010 / Disetujui 07 Juni 2011

ABSTRACT

The aims of this study were to determine total phenolic content, antioxidant activity and antibacterial activity of polar and nonpolar extracts of basil (*O. sanctum* L.) seed. Seeds of basil (*O. sanctum* L.) were extracted using a soxhlet extractor using four types organic solvent, i.e. chloroform, ethyl acetate, acetone, and methanol for eight hours each. The total phenolic content was determined using Folin Ciocalteu method, antioxidant activity was determined using reducing power and DPPH (1,1-diphenyl,2-picrylhydrazyl) scavenging activity methods, while antibacterial activity was tested using agar diffusion method. The result showed that the highest total phenolic content and antioxidant activity was obtained in methanol extract with 3.63 ± 0.21 mgGAE/g phenolic total, 58.39 ± 3.81 μ ek/g using reducing power method and $85.73 \pm 0.86\%$ free radical scavenging activity. Furthermore the result of antibacterial activity testing showed that the highest diameter of inhibition zone was observed in ethyl acetate extract inhibition on *E.coli*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, and *S.aureus* where its inhibition zone were 13.53 ± 0.63 ; 10.67 ± 1.05 ; 14.93 ± 0.80 , and 13.46 ± 0.79 mm, respectively. This result suggests that both polar and nonpolar basil seed extracts possess specific biological activity. This data provide valuable and strong database for exploration of natural antibacterial agents and antioxidant for food and health industry application.

Key words : basil seed, antioxidant, antibacterial, phenolic total, seed extract

PENDAHULUAN

Perkembangan penelitian tumbuhan pada sisi aktivitas biologis seperti aktivitas antioksidan dan antibakteri menjadi perhatian yang menarik dalam upaya penggalian senyawa baru potensial yang bermanfaat bagi kesehatan manusia dan manfaatnya di bidang industri pangan. Dalam kaitannya dengan manfaat di bidang kesehatan, sifat antioksidan suatu senyawa mampu menghambat atau menunda terjadinya reaksi radikal bebas akibat adanya oksigen reaktif sehingga sifat tersebut menjadi penting dalam pencegahan berbagai penyakit, seperti kanker dan jantung koroner (Leong, Shui, 2002).

Beberapa jenis tumbuhan, khususnya dari keluarga *Lamiaceae*, seperti *sage*, *oregano* dan *thyme* mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi (Hirasa dan Takemasa, 1998). Salah satu tumbuhan dari keluarga *Lamiaceae* yang juga diduga memiliki aktivitas antioksidan adalah selasih. Selasih merupakan tumbuhan yang berasal dari India dan banyak tumbuh di Suriname (Anonim¹, 2005).

Selasih *Ocimum sanctum* Linn berhubungan sangat erat dengan tumbuhan kemangi, *Ocimum basilicum* Linn. Selasih umumnya tumbuh secara liar di tepi-tepi jalan dan dapat ditemukan di daerah dataran rendah sampai ketinggian 450 meter dan kadang-kadang ditanam sampai 1.100 meter di atas permukaan laut (Wijayakusuma, 2005). Secara tradisional, selasih telah digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan

beberapa penyakit seperti, sakit kepala, batuk, diare, sembelit, penyakit kulit, penyakit cacing dan gagal ginjal. Kegunaan lain, tanaman ini sering digunakan sebagai penambah aroma pada makanan (Simon *et al.*, 1999).

Simon *et al.* (1990) melaporkan bahwa selasih merupakan sumber minyak atsiri dan senyawa aromatik. Minyak aromatik yang terkandung dalam selasih dipercaya cukup berpotensi untuk membunuh serangga dan mencegah menyebarnya jenis bakteri tertentu (Loha, 2005). Hasil dari penelitian yang telah berkembang menyebutkan bahwa selasih memiliki mekanisme perlawanan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dan *Staphylococcus aureus* in vitro (Anonim², 2005). Aktivitas biologis lainnya ditunjukkan melalui beberapa penelitian yang melaporkan bahwa selasih mengandung senyawa yang bersifat insektisida (Deshpande, Tipnis, 1997), nematisida (Chatterjee *et al.*, 1982), fungisida (Reuveni *et al.*, 1984) atau mempunyai sifat antimikroba (Ntezurubanza *et al.*, 1984).

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan kadar total fenolik, menentukan aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak biji selasih khas Indonesia. Dengan diketahuinya aktivitas antioksidan dan antibakteri pada ekstrak biji selasih, maka senyawa aktif spesifik yang bertanggungjawab pada aktivitas biologisnya dapat selanjutnya diisolasi dan dikarakterisasi.

Penemuan senyawa aktif tersebut selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan sintesis maupun semi sintesis bahan pengawet maupun obat-obatan.

*Korespondensi Penulis :
Email : agustina.nurcahyanti@staff.uph.edu

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan utama dalam penelitian ini adalah biji selasih (*O. sanctum* L) yang diperoleh dari pasar Salatiga. Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi adalah kloroform, etil asetat, aseton dan metanol. Bahan kimia untuk pengukuran kadar total fenolik adalah aseton 60%, reagen Folin-Ciocalteu dan sodium karbonat.

Bahan kimia untuk pengukuran aktivitas antioksidan metoda kemampuan mereduksi dan aktivitas penghambatan radikal DPPH adalah $K_3Fe(CN)_6$, $K_4Fe(CN)_6$, TCA, $FeCl_3$, buffer fosfat 0,2 M pH 6,6, etanol, DPPH, *dimethyl sulphoxide* (DMSO) dan buffer Tris-HCl 100 mM pH 7,4.

Bakteri yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri adalah *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Staphylococcus aureus* ID 784, *Escherichia coli* 0091 IFO, dan *Pseudomonas aeruginosa* FNCC 0063. Sedangkan medium yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB) dan agar *Muller Hinton* (MH).

Piranti yang digunakan meliputi blender, *soxhlet*, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1240, neraca analitik dan peralatan gelas.

Ekstraksi (Negi et al., 2005)

Biji selasih kering dihaluskan menggunakan mortar dan kemudian diayak menggunakan ayakan ukuran 35 mesh. Serbuk selasih sebanyak 50 g diekstrak menggunakan soklet selama 8 jam menggunakan masing-masing 200 ml pelarut kloroform, etil asetat, aseton dan metanol secara berturut-turut.

Pengukuran kadar total fenolik (Spanos dan Wrolstad, 1990; Lister dan Wilson, 2001)

Sebanyak 0,5 ml ekstrak yang telah dilarutkan dalam aseton : air = 6: 4 (v:v) ditambah dengan 2,5 ml reagen Folin-Ciocalteu 10% dan 2 ml larutan sodium karbonat 7,5%. Setelah diinkubasi pada suhu 45 °C selama 15 menit, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 765 nm. Sebagai blanko digunakan aseton : air = 6: 4 (v:v) sebagai pengganti sampel. Sebagai standar digunakan asam galat pada berbagai konsentrasi. Kadar total fenolik dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen asam galat/g sampel (mg GAE/g).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metoda kemampuan mereduksi ion besi (III) menjadi ion besi (II) (Modifikasi Oyaizu, 1986)

Volume larutan dan reagen kimia yang digunakan dalam penelitian ini merupakan dua kali dari volume pada metode yang dikemukakan Oyaizu (1986). Sebanyak 1 ml ekstrak ditambah dengan 2,5 ml buffer fosfat 0,2 M pH 6,6 dan 2,5 ml $K_3Fe(CN)_6$ 1% kemudian diinkubasi pada suhu 50 °C selama 30 menit.

Larutan ditambah dengan 2,5 ml TCA 10% dan diputar dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 2,5 ml larutan atas dicampur dengan 2,5 ml akuades dan 0,5 ml $FeCl_3$ 0,1 %.

Larutan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 10 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 700 nm.

Sebagai blanko digunakan akuades sebagai pengganti sampel. Sebagai standar digunakan $K_4Fe(CN)_6$ pada berbagai konsentrasi dan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam satuan $\mu\text{ek g}^{-1}$.

Pengukuran aktivitas antioksidan metoda aktivitas penghambatan radikal DPPH (modifikasi Blois, 1958)

Volume larutan dan reagen kimia yang digunakan dalam penelitian ini merupakan dua kali dari volume pada metode yang dikemukakan Blois (1958). Sebanyak 0,5 ml ekstrak yang telah dilarutkan dalam *dimethyl sulphoxide* (DMSO) ditambah dengan 2,5 ml DPPH 0,5 mM. Volume total larutan digenapkan menjadi 5 ml dengan buffer Tris HCl 100 mM pH 7,4.

Larutan diinkubasi pada suhu ruang dan gelap selama 20 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persentase penghambatan radikal bebas DPPH.

% Penghambatan DPPH =

$$\frac{\text{AbsorbansiDPPH} - \text{AbsorbansiSampel}}{\text{AbsorbansiDPPH}} \times 100\%$$

Pengujian aktivitas antibakteri (Hostettmann, 1997)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri Gram negatif (*E. coli* 0091 IFO dan *P. aeruginosa* FNCC 0063) dan Gram positif (*B. subtilis* ATCC 6051 dan *S. aureus* ID 784) yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU), Universitas Gadjah Mada. Sebanyak 3-5 ose biak bakteri yang telah ditumbuhkan pada *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB) selama 24 jam disuspensikan ke dalam 20 ml larutan NaCl. Kemudian suspensi bakteri tersebut diukur *optical density* ($OD_{600}=0,132$).

Sebanyak 1 ml suspensi bakteri yang telah diketahui absorbansinya dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang berisi 10 ml *Muller Hinton* agar yang masih cair sambil digoyang agar bakteri merata dan dibiarkan hingga medium memadat pada suhu ruang. Selanjutnya, cakram kertas berdiameter 6 mm (Schleicher dan Schuell 2668 Ref. No. 10321260, D60222274-1 Dassel, Germany) yang telah berisi ekstrak sebanyak 20 μl diletakkan pada medium yang telah memadat. Cakram kertas antibiotika *Tetracycline* (TE 30 μg) sebagai pembanding positif diletakkan pada cawan petri yang berbeda. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Diameter daerah hambatan diukur setelah masa inkubasi berakhir. Kekuatan aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan standar yang dikemukakan oleh Conner dan Beuchat (1984); aktivitas kuat memiliki Diameter Daerah Hambatan (DDH) > 1,1 cm, aktivitas lemah memiliki DDH 0,6 – 1,1 cm dan ekstrak dengan DDH < 0,6 cm berarti tidak menghambat pertumbuhan bakteri.

Analisis data

Data yang diperoleh dari percobaan dengan ulangan sebanyak tiga kali dianalisis menggunakan statistika sederhana dan dijelaskan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar total fenolik ekstrak polar dan non polar biji selasih

Kadar total fenolik berbagai ekstrak biji selasih diukur dengan metoda Folin Ciocalteu. Kadar total fenolik berturut-turut dari ekstrak metanol, etil asetat, aseton dan kloroform (dalam satuan mg GAE/g) adalah $3,63 \pm 0,21$; $1,40 \pm 0,03$; $0,97 \pm 0,03$; dan $0,14 \pm 0,01$. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki kadar total fenolik paling tinggi dibanding tiga ekstrak lainnya. Ozkan *et al.* (2003) meneliti sejumlah tanaman yang tergolong dalam family *Lamiaceae* dan menemukan bahwa kebanyakan dari tanaman tersebut mengandung senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang kuat.

Senyawa fenolik utama yang ditemukan di dalam tumbuhan adalah metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan aktivitas tersebut tersebar luas di spesies-spesies *Lamiaceae* (Gang *et al.*, 2001). Hasil penelitian lain yang serupa dengan penelitian biji selasih ini adalah penelitian Negi *et al.* (2005) yang meneliti biji *Hippophae rhamnoides* L. Kadar total fenolik tertinggi biji tersebut terdapat pada ekstrak metanol yang kemudian diikuti oleh ekstrak etil asetat, aseton dan kloroform.

Perbedaan kadar total fenolik dari masing-masing ekstrak dapat disebabkan oleh sifat polaritas senyawa fenolik yang bersifat polar. Senyawa fenolik merupakan substansi yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil sehingga sifatnya mudah larut dalam pelarut polar. Houghton dan Raman (1998) menyatakan bahwa komponen fenolik umumnya larut dalam pelarut organik yang bersifat polar, sehingga sesuai dengan pernyataan tersebut dan hasil penelitian ini, pelarut metanol yang dapat mengekstrak senyawa fenolik lebih baik.

Kadar total fenolik tertinggi setelah metanol terdapat pada ekstrak etil asetat. Ekstrak etil asetat memiliki kadar total fenolik lebih tinggi dibanding ekstrak kloroform. Menurut Harbone (1987) pelarut etil asetat yang bersifat semi polar juga dapat mengangkat senyawa fenolik.

Menilik penelitian tentang senyawa fenolik yang diteliti pada beberapa tumbuhan dalam genus *Ocimum* (bagian tanaman tidak disebutkan, Hakkim *et al.* (2008) meneliti kandungan senyawa fenolik ekstrak daun dari delapan spesies *Ocimum* menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Dari hasil analisa tersebut, *Ocimum gratissimum* memiliki kandungan senyawa fenolik tertinggi dibanding ketujuh spesies lainnya. Senyawa fenolik teridentifikasi dan terkuantifikasi pada panjang gelombang 330 nm, dimana senyawa-senyawa tersebut adalah senyawa fenolik, hidroksinamat, dan flavonoid. Dalam penelitian tersebut, senyawa asam rosmarinat, asam litospermat, asam vanilat, asam *p*-kumarat, asam hidroksibenzoat, asam siringat, asam kafeat, asam ferulat, asam sinamat, asam dihidroksifenilaktat, dan asam sinapat mampu diidentifikasi.

Asam rosmarinat merupakan senyawa fenolik yang ditemukan paling banyak diantara spesies *Ocimum* yang diuji. Hal tersebut juga sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Javanmardi *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa asam rosmarinat terdapat melimpah di dalam keluarga *Lamiaceae*, khususnya genus *Ocimum*.

Aktivitas antioksidan ekstrak polar dan non polar biji selasih melalui uji kemampuan mereduksi ion besi (III) menjadi besi (II)

Aktivitas antioksidan berbagai ekstrak biji selasih diukur dengan metoda kemampuan mereduksi. Dari hasil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi terletak pada ekstrak metanol dengan nilai $58,39 \mu\text{ek/g} \pm 3,81$, yang kedua adalah ekstrak aseton sebesar $10,65 \mu\text{ek/g} \pm 0,67$, ketiga adalah ekstrak etil asetat sebesar $9,03 \mu\text{ek/g} \pm 0,31$ dan aktivitas terendah pada ekstrak kloroform sebesar $0,77 \mu\text{ek/g} \pm 0,04$. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik yang bersifat antioksidan pada biji selasih lebih bersifat polar sehingga menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada pelarut polar. Hasil ini juga mendukung penelitian Juntachote dan Berghofer (2005) yang melaporkan bahwa ekstrak polar yaitu etanol dari selasih memiliki peningkatan aktivitas antioksidan yang berbanding lurus dengan jumlah konsentrasinya. Aktivitas antioksidan berhubungan dengan sifat mereduksi yang dimiliki masing-masing ekstrak. Sifat mereduksi secara umum disebabkan hadirnya senyawa aktioksidan yang bersifat sebagai reduktor. Gordon (1990) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dari reduktor akan memecah rantai radikal dengan pemberian atom hidrogen. Kehadiran reduktan (antioksidan) dalam sampel yang diuji akan menghasilkan reduksi kompleks Fe^{3+} menjadi bentuk Fe^{2+} (Hakkim *et al.*, 2008). Dari hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki sifat mereduksi paling tinggi. Hal ini erat kaitannya dengan kadar total fenolik yang dikandungnya.

Pietta (2002) menyatakan bahwa senyawa fenolik yang merupakan antioksidan dapat bertindak sebagai zat pereduksi, penyumbang hidrogen dan peredam oksigen singlet. Dengan demikian ekstrak metanol yang memiliki kadar total fenolik tertinggi juga memiliki kemampuan sebagai zat pereduksi yang tertinggi pula.

Aktivitas antioksidan ekstrak polar dan non polar biji selasih melalui uji kemampuan penghambatan radikal bebas DPPH

Aktivitas antioksidan berbagai ekstrak biji selasih yang diukur dengan metoda penghambatan radikal bebas DPPH disajikan pada Tabel 1. Pada metoda ini, ekstrak kloroform tidak dapat diuji karena mengandung asam lemak tinggi.

Wohlmut (2000) menyatakan bahwa biji selasih mengandung lima asam lemak, termasuk di dalamnya adalah 17% asam linolenat dan lebih dari 50% adalah asam linoleat.

Menurut Shahidi dan Nacz (2004), asam lemak bereaksi sebagai inisiator proses autooksidasi lemak sehingga ekstrak kloroform yang mengandung lemak kurang efektif dalam menghambat radikal bebas.

Tabel 1. Persentase aktivitas penghambatan radikal DPPH ekstrak semi polar dan polar biji selasih

Konsentrasi Ekstrak (µg/ml)	% Penghambatan DPPH (Rerata ± SE)		
	Etil Asetat	Aseton	Metanol
20	0,67 ± 0,09	1,06 ± 0,09	6,64 ± 0,56
40	5,45 ± 0,33	4,54 ± 0,35	28,64 ± 0,84
60	31,16 ± 1,92	25,03 ± 0,11	51,55 ± 1,20
80	51,03 ± 1,59	26,61 ± 0,59	85,73 ± 0,86
100	67,80 ± 0,93	30,03 ± 1,06	81,21 ± 2,42

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa beberapa biji selasih adalah penghambat radikal bebas dan bereaksi sebagai antioksidan primer. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan metoda aktivitas penghambatan radikal DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki kemampuan penghambatan terhadap radikal bebas DPPH paling tinggi pada semua konsentrasi dibanding ekstrak etil asetat dan aseton. Secara umum, ekstrak dengan kandungan fenolik yang tinggi menunjukkan aktivitas penghambatan radikal bebas yang tinggi pula (Anagnostopoulou *et al.*, 2004).

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Hakkim *et al* (2008) yang menyebutkan bahwa terdapat korelasi linear yang sangat baik ($R^2 = 0,962$) antara kandungan senyawa fenolik dengan aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH. Hasil tersebut juga mengindikasikan bahwa kemampuan penghambatan radikal bebas dari masing-masing ekstrak berhubungan dengan konsentrasi senyawa fenolik. Hal ini terlihat pada ekstrak metanol yang mengandung kadar total fenolik tertinggi juga memiliki aktivitas penghambatan radikal bebas yang tertinggi diikuti ekstrak etil asetat dan ekstrak aseton.

Aktivitas antibakteri ekstrak polar dan non polar biji selasih

Uji aktivitas senyawa antibakteri dilakukan dengan metoda cakram kertas untuk mengetahui Diameter Daerah Hambatan (DDH) berbagai ekstrak biji selasih dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Hasil disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata diameter daerah hambatan (DDH) (mm ± SE) ekstrak polar dan non polar biji selasih (*O.sanctum* L) terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*

Ekstrak	Rata-Rata DDH (mm ± SE)			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Kloroform	6,77 ± 0,71	6,94 ± 0,64	6,83 ± 0,19	7,31 ± 0,68
Etil Asetat	13,53 ± 0,63	10,67 ± 1,05	14,93 ± 0,80	13,46 ± 0,79
Aseton	10,45 ± 0,84	9,74 ± 0,74	12,88 ± 0,46	10,44 ± 0,92
Metanol	7,86 ± 0,48	9,35 ± 1,09	9,93 ± 0,38	10,24 ± 0,10

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*) menunjukkan nilai DDH yang terbesar pada ekstrak etil asetat yaitu 13,53 mm ± 0,63 dan 10,67 ± 1,05 secara berturut-turut untuk kedua bakteri. Sedangkan, hasil uji aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) menunjukkan nilai DDH yang terbesar pada ekstrak etil asetat sebesar 14,93 mm ± 0,80 dan 13,46 mm ± 0,79 secara berturut-turut untuk kedua bakteri.

Penentuan kekuatan aktivitas antibakteri berbagai ekstrak biji selasih terhadap empat bakteri patogen ditentukan berdasarkan standar yang dikemukakan oleh Conner dan Beuchat (1984) dan hasilnya disajikan pada Tabel 3.

Tabel 2. menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antibakteri tertinggi berdasarkan ukuran Diameter Daerah Hambatan (DDH) diikuti ekstrak aseton, metanol dan kloroform. Menurut Kanazawa *et al.* (1995) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas

antimikroba maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik (HLB : *hydrophilic lipophilic balance*).

Polaritas senyawa merupakan sifat fisik senyawa antimikroba yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik untuk mencapai aktivitas yang optimal (Brannen dan Davidson, 1993).

Tabel 3. Daya hambatan ekstrak kloroform, etil asetat, aseton dan metanol terhadap bakteri uji berdasarkan Conner dan Beuchat (1984)

Bakteri	Ekstrak			
	Kloroform	Etil Asetat	Aseton	Metanol
Gram Negatif				
<i>E. coli</i>	Sedang	Kuat	Sedang	Sedang
<i>P. aeruginosa</i>	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang
Gram Positif				
<i>B. subtilis</i>	Sedang	Kuat	Kuat	Sedang
<i>S. aureus</i>	Sedang	Kuat	Sedang	Sedang

Keterangan :

- Lemah : DDH < 0,6 cm
- Sedang : DDH 0,6 – 1,1 cm
- Kuat : DDH > 1,1 cm

Ekstrak metanol memiliki aktivitas lebih rendah daripada ekstrak etil asetat. Hal ini sesuai dengan penelitian Moshi dan Mbwambo (2005) bahwa ekstrak semipolar (etil asetat) mampu menghambat bakteri *E.coli* dan *B.anthraxis* dengan diameter hambat lebih besar daripada ekstrak polar (metanol). Demikian juga penelitian Springfield *et al.* (2003) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat dari tanaman *Carpobrotus murii* dan *C.quadrifidus* lebih berpotensi dalam menghambat *S. aureus* dan *Mycobacterium smegmatis* daripada ekstrak air.

Ekstrak kloroform memiliki aktivitas antibakteri paling rendah dibanding tiga ekstrak lainnya. Hal ini disebabkan karena ekstrak kloroform mengandung lebih banyak minyak dan lemak daripada ekstrak etil asetat, aseton dan metanol. Minyak dan lemak lain yang mempunyai ukuran molekul besar, mengganggu proses difusi, menjadi penghalang masuknya minyak atsiri maupun senyawa fenolik ke dalam sel dan melindungi bakteri dari senyawa antibakteri, sehingga ekstrak kloroform tidak cukup untuk berdifusi dan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Kanazawa *et al.*, 1995). Selain itu, kemungkinan lemak dan minyak berinteraksi dengan minyak atsiri atau senyawa fenolik sehingga menurunkan aktivitas antibakteri (Naufalin, 2005).

Aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) lebih kuat dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*). Hal ini terkait dengan sifat dinding sel yang dimiliki bakteri tersebut. Fardiaz (1983) menyatakan bahwa bakteri Gram positif dan Gram negatif mempunyai dinding sel yang berbeda sensitivitasnya terhadap perlakuan fisik, enzim, dan antibiotik. Menurut Michael (1987), bakteri Gram positif lebih rentan terhadap senyawa antimikroba dibandingkan bakteri Gram negatif. Perbedaan sensitivitas antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif didasarkan pada perbedaan morfologi dinding selnya. Menurut Pelezar dan

Chan (1986), struktur dinding sel bakteri Gram positif relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks, berlapis dua yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein dan lipopolisakarida (memiliki sistem seleksi terhadap zat-zat asing) dan lapisan dalam berupa peptidoglikan.

Dari hasil yang diperoleh, tampak bahwa keempat ekstrak biji selasih memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sejalan dengan penelitian Ntezurubanza (1984) yang melaporkan bahwa selasih bersifat antimikroba dan mampu melawan *Mycobacterium tuberculosis* dan *Staphylococcus aureus* in vitro. Penelitian lain juga dilakukan oleh Singh *et al.* (2007) di India yang menyatakan bahwa ekstrak minyak biji selasih menunjukkan aktivitas antibakteri melawan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus pumilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dimana *S. aureus* merupakan bakteri yang paling sensitif. Dibandingkan dengan hasil penelitian ini, ekstrak minyak biji selasih dalam pelarut etil asetat mampu melawan *Bacillus subtilis*, dengan diameter daerah hambatan paling tinggi, diikuti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang memiliki daerah hambatan hampir sama dan bakteri yang paling rendah tingkat sensitivitasnya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Singh *et al.* (2007) dimana *S. aureus* merupakan bakteri yang paling sensitif. Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain keragaman varietas tumbuhan selasih yang dihasilkan dari tempat tumbuh yang memiliki kondisi geografis dan iklim yang berbeda. Dalam penelitian ini, biji selasih diperoleh dari tanaman yang ditumbuhkan di Indonesia, sedangkan pada penelitian lain di India. Ekstrak minyak biji selasih ini menunjukkan diameter daerah hambatan paling besar terhadap *S. aureus* dibandingkan minyak wijen dan minyak kedelai.

Komponen antibakteri yang terkandung dalam ekstrak biji selasih dimungkinkan berasal dari golongan triterpenoid. Hipotesa ini ditarik berdasarkan sifat salah satu senyawa triterpenoid yang dapat terekstrak pada pelarut heksana dan etil asetat (Naufalin, 2005). Senyawa triterpenoid yang mempunyai aktivitas antimikroba antara lain adalah borneol, sineol, pinene, kamfene dan kamfor (Conner, 1993), merediol, linalool, indol dan kadinen (Kubo *et al.*, 1993). Senyawa ini efektif untuk menghambat pertumbuhan *B. subtilis*, *S. aureus* dan *E. coli*. Juliani dan Simon (2002) menyatakan bahwa tumbuhan selasih mengandung beberapa senyawa triterpenoid seperti kamfene, borneol, sineol, kamfor dan linalool. Sumber lain juga melaporkan bahwa triterpenoid yang terkandung di dalam tanaman selasih adalah asam ursolat. Roberto *et al.* (2003) telah melaporkan secara mendalam bahwa kandungan minyak atsiri genus *Ocimum* memiliki aktivitas antibakteri dan kandungan minyak atsiri tersebut hanya berpengaruh dalam aktivitas antibakteri, bukan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan lebih dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenolik yang berdasarkan pada penelitian ini lebih bersifat polar.

Bendini *et al.* 2006 melakukan penelitian mengenai hubungan antara kandungan fenolik dengan aktivitas antioksidan dan antibakteri dari lima spesies *Passiflora* di Italia. Penelitian tersebut melaporkan bahwa *P. nitida*, *P. foetida*, dan

P. palmeri memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidan yang tinggi. *P. tenuifila* dan *P. coriacea* menunjukkan aktivitas antioksidan namun tidak menunjukkan aktivitas antimikroba.

Tingginya aktivitas antioksidan berhubungan dengan tingginya jumlah senyawa o-diphenol dan katekin. Beberapa komponen yang tidak diketahui, sementara diidentifikasi sebagai struktur isomer yang muncul dan senyawa tersebut berhubungan dengan aktivitas antimikroba yang muncul. Pada penelitian ini, ekstrak metanol menunjukkan aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik yang paling tinggi diantara tiga ekstrak lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang ada disebabkan karena kehadiran senyawa fenolik. Di sisi lain, aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan pada ekstrak etil asetat. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa yang berperan dalam aktivitas antibakteri tidak berasal dari senyawa fenolik pada ekstrak metanol yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, namun berasal dari senyawa lain yang terdapat pada ekstrak etil asetat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kadar total fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak metanol. Aktivitas antioksidan tertinggi juga terdapat pada ekstrak metanol berdasarkan kemampuan mereduksi dan aktivitas penghambatan radikal DPPH. Sedangkan aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat. Saran yang dapat diberikan bagi kelanjutan penelitian ini adalah penelitian mengenai isolasi, dan karakterisasi senyawa aktif yang bersifat antioksidan dari golongan fenolik maupun golongan lainnya serta senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Disamping itu penelitian lain dapat dilakukan dengan mengidentifikasi dan mengelusidasi minyak atsiri yang terkandung di dalam biji selasih terutama yang memiliki aktivitas biologis yang tinggi. Isolasi dan karakterisasi dari senyawa tersebut akan memberikan kontribusi yang sangat besar bagi dunia kesehatan, khususnya penciptaan senyawa obat dari bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim¹. 2005. *Ocimum sanctum* L–Holy Basil <http://www.tropilab.com/holy-bas.html>. [5 April 2007].
- Anonim². 2005. *Ocimum sanctum* Ext. (Tulsi) <http://www.sbepl.com/ocimum-sanctum.html>. [5 April 2007].
- Bendini A, Cerretani L, Pizzolante L, Toschi TG, Guzzo F, Ceoldo S, Marconi AM, Andreetta F, Levi M. 2006. Phenol content related to antioxidant and antimicrobial activities of *Passiflora* spp. extracts. *Eur. Food Res Technol* 223:102–109.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radicals. *Nature* 181:1199-1200. Dalam. Negi PS, Chauhan AS, Sadia GA, Rohinishree YS, Ramteke RS. 2005. Antioxidant and antibacterial of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed extract. *J Food Chem* 92 : 119-124.

- Chatterjee A, Sukul NC, Laskar S, Ghoshma Jumdar S. 1982. Nematicidal principles from two species of Lamiaceae. *J Nematol* 14 : 118–20.
- Conner DE, Beuchar LR. 1984. Effect of essential oil from plants on growth of spoilage yeasts. *J Food Sci* 49:429–434. Dalam. Elgayyar M *et al.* 2001. Antimicrobial Activity of Essential Oil from Plants against Selected Pathogenic dan Saprophytic Mikroorganism. *J Food Prot* 64(7):1019-1024.
- Deshpande RS, Tipnis HP. 1997. Insecticidal activity of *Ocimum basilicum* L. *Pesticides* 11:1–12. Dalam. Hakkim FL, Girija A, dan Boopathy R. 2008. Antioxidant property of selectd *Ocimum* species and their secondary metabolite content. *JMPR* 2(9):250–257.
- Fardiaz S. 1983. Keamanan Pangan Jilid 1. Jurusan TPG Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor dalam Zuhud EAM, Rahayu PW, Wijaya CH, dan Pipi PS. 2001. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) Terhadap Bakteri Patogen. *J Teknol dan Industri Pangan* 2(1):11.
- Hirasa K, Takemasa M. 1998. Spice science and technology. Marcel Dekker, New York. Dalam. Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E and Vivanco JM. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *J Food Chem* 83:547-550.
- Javanmardi J, Khalighi A, Kashi A, Bais HP, Vivanco JM. 2002. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medical in Iran. *J Agric. Food Chem* 50, 5878-5883.
- Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E, Vivanco JM. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *J Food Chem* 83:547-550.
- Juliani HR, Simon JE. 2002. Antioxidant activity of Basil. J. Janick and A. Whipkey (eds.). *Trends in New Crops and New Uses*. ASHS Press, Alexandria, VA.
- Juntachote T, Berghofer. 2005. Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. *J Food Chem* 92:193-202.
- Kuswandi M, Iravanti S, Asmini P, Hidayati N. 2001. Daya Antibakteri Minyak Atsiri Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L) Terhadap Bakteri yang Resisten Antibiotika. *Pharmacom* 2(2).
- Leong, Shui G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *J Food Chem* 76:69-75.
- Loha K. 2005. Holy Basil : (bai gkprow). <http://www.thaifoodandtravel.com/ingredients/basilh.html>.
- Michael JT. 1987. *Process in Pathology and Microbiology*. Blackwell Scientific Publication, Oxford, London.
- Naufalin R, *et al.* 2005. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *J Teknol dan Industri Pangan* 16(2):119-125.
- Negi PS, Chauhan AS, Sadia GA, Rohinishree YS, Ramteke RS. 2005. Antioxidant and antibacterial of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed extract. *J Food Chem* 92:119-124.
- Pelezar MJ, Chan ECS. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*. Penerjemah Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, UI Press, Jakarta. Dalam. Zuhud EAM, Rahayu PW, Wijaya CH, dan Pipi PS. 2001. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) Terhadap Bakteri Patogen. *J Teknol dan Industri Pangan* 2(1):11.
- Reuveni R, Fleischer A, Putievski E. 1984. Fungistatic activity of essential oils from *Ocimum basilicum* Chemotypes. *Phitopatol Z* 10:20–22.
- Shahidi F, Janitha PK, Wanasundara PD. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition* 32 (1):67-103. Dalam. Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E dan Vivanco JM. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chem* 83:547-550.
- Shahidi, Naczk. 2004. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. CRC Press LLC, Florida.
- Simon JE, Morales MR, Phippen WB, Vieira RF, Hao. 1999. Basil: A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. Dalam. Janick J (eds). *Perspective on New Crops and New Uses*. P. 499-505. ASHS Press, Alexandria, VA.
- Simon JE, Quinn J, Murray RG. 1990. Basil: A source of essential oils. Dalam. Janick J and Simon JE (eds.). *Advances in New Crops*. Timber Press, Portland, OR.
- Vani SR, Cheng SF, Chuah CH. 2009. Comparative study of volatile compounds from genus *Ocimum*. *Am. J Appl. Sci.* 6 (3):523-528.
- Wohlmut H. 2000. Sacred basil – an Ayurvedic adaptogen. *Information & Research On Botanical Medicine*.