

---

**Daya Hambat Ekstrak Biji Pala (*Myristica fragrans*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara *In Vitro*****Windy Dwi Afriyansari<sup>1</sup>, Pestariati<sup>2</sup>, Syamsul Arifin<sup>3</sup>**

Jurusan Analis Kesehatan

Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya, Email :

windydw112@gmail.com

**ABSTRACT**

*Diarhea is one of the most serious problems that occur in developing countries with the most deaths in infants and children. One of the causes of diarrhea is Escherichia coli bacteria. The nutmeg seed (Myristica fragrans) contains essential oil, phenolic and saponin compounds that act as antibacterial. This purpose of research to know the ability of nutmeg seed extract (Myristica fragrans) to growth of Escherichia coli bacteria. This research is Quasi Experimental with Posstest Only Control Group Design. This research was conducted from May to June 2017 in Laboratory of Bacteriology Department of Health Analysis Health Polytechnic of Surabaya. Antibacterial inhibitory test using liquid dilution method. The concentrations of nutmeg seed extract used were 25%, 20%, 15%, 10%, 5% and 0%. Analysis of the data obtained in this research is processed by using non parametric test that is Kruskal Wallis test. The result of this research by used liquid dilution method showed MIC (Minimum Inhibitory Concentration) of nutmeg seed extract to growth of Escherichia coli bacteria that is 20%. MBC (Minimum Bactericidal Concentration) of nutmeg seed extract to growth of Escherichia coli bacteria that is at 25% concentration, this is because in of nutmeg seed extract contains antibacterial compound that is essential oil compound, phenolic and saponin. The results of this study indicate that nutmeg seed extract (Myristica fragrans) is able to inhibit the growth of Escherichia coli bacteria.*

**Keywords:** Nutmeg seed extract (*Myristica fragrans*), *Escherichia coli*, liquid dilution method.

**PENDAHULUAN**

Sumber daya hayati Indonesia sangat berlimpah dan beranekaragam. Berdasarkan data pada Lokakarya Nasional Tanaman Obat Kementerian Kehutanan RI 22 Juli 2010, Indonesia memiliki 75% kekayaan tumbuhan dunia yaitu 30.000 jenis yang diantaranya merupakan tanaman obat. Saat ini tanaman obat banyak diuji dan digunakan dalam bidang medis atau kesehatan karena alasan keamanan. Pengujian yang dilakukan ini membuat tanaman obat tersebut memiliki nilai ekonomi dan daya guna tinggi (Rahmawati, 2012).

Salah satu tumbuhan obat yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah Pala. Pala (*Myristica fragrans*) merupakan salah satu jenis rempah-rempah asli Indonesia yang memiliki nilai ekonomis dan multi guna karena setiap bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri baik pangan, pengobatan dan kosmetika.

Salah satu bagian pala yang dapat dimanfaatkan adalah biji pala. Biji pala merupakan tanaman yang mengandung minyak atsiri, minyak lemak, saponin, miristisin, elemisi, enzim lipase, pektin, zat samak, lemonena, asam oleat dan asam

linoleat (Hari, 2012). Kandungan biji pala yang lebih berkhasiat adalah minyak atsiri. (Gupta, 2013), menyatakan bahwa minyak atsiri biji pala bersifat sebagai antioksidan, antimikroba dan antifungi. Pala memiliki antioksidan yang tinggi disebabkan adanya senyawa fenolik terutama dalam biji pala (Tan, 2013). Kasus diare masih menjadi masalah serius di negara berkembang dengan kematian terbanyak pada balita dan anak-anak. Menurut survei yang dilakukan oleh Subdit Diare Departemen Kesehatan, dari tahun 2000 hingga 2010 kasus diare terlihat cenderung meningkat (Fitriana, 2014). Diare adalah penyakit dengan gejala defekasi lebih dari tiga kali dalam sehari disertai konsistensi feses lembek atau cair. Penyebab diare adalah infeksi, bakteri yang mengkontaminasi makanan atau minuman, racun oleh bakteri, alergi terhadap makanan atau obat, kekurangan vitamin, kelainan sistem endokrin dan metabolisme (Nurhalimah, 2015). Salah satu penyebab diare adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat pada usus manusia (Jawetz *et al*, 2015). Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

#### METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat Quasi Experimental dengan rancangan *Posttest Only Control Group Design* untuk mengetahui daya hambat ekstrak Biji Pala (*Myristica fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

#### BAHAN EKSTRAKSI

Biji Pala (*Myristica fragrans*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pasar Krian Sidoarjo pada bulan Februari 2017, kemudian dipotong kecil dan dihaluskan, lalu di ekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 300 gram serbuk biji pala yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 1200 ml hingga simplisia tergenang, kemudian digoyang selama 1 jam untuk mencapai kondisi homogen dalam *shaker waterbath*. Selanjutnya larutan dimaserasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, larutan difiltrasi atau dipisahkan dengan menggunakan penyaring *Buchner*, dilakukan remaserasi ulang selama 24 jam, maserasi diulang sampai 3 kali. Hasil saringan 1 sampai 3 dicampur dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 40 °C sampai didapatkan ekstrak pekat, setelah itu dilakukan pengenceran terhadap ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*).

Konsentrasi 25% :

0,5 ml ekstrak biji pala + 1,5 ml larutan DMSO 10%.

Konsentrasi 20% :

0,4 ml ekstrak biji pala + 1,6 ml larutan DMSO 10%.

Konsentrasi 15% :

0,3 ml ekstrak biji pala + 1,7 ml larutan DMSO 10%.

Konsentrasi 10% :

0,2 ml ekstrak biji pala + 1,8 ml larutan DMSO 10%.

Konsentrasi 5% :

0,1 ml ekstrak biji pala + 1,9 ml larutan DMSO 10%.

Konsentrasi 0% :

2 ml larutan DMSO 10%.

#### PEMBUATAN SUSPENSI BAKTERI

Pembuatan suspensi bakteri diawali dengan pembuatan standar McFarland 0,5 yang kekeruhannya

kurang lebih setara dengan jumlah bakteri sebanyak  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml.

Bakteri *Escherichia coli* yang telah di remajakan pada media *Nutrient Agar Slant* (NAS) diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam larutan NaCl 0,9% steril hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan standar McFarland 0,5, kemudian suspensi bakteri uji diencerkan dengan perbandingan 1:100 menggunakan *Mueller Hinton Broth* (MHB). Perlakuan ini dilakukan pada bakteri yang akan diuji yaitu *Escherichia coli*.

#### METODE DILUSI CAIR

Ekstrak biji pala dengan konsentrasi 25%, 20%, 15%, 10%, 5% dan 0% diambil sebanyak 0,5 ml ekstrak biji pala pada masing-masing konsentrasi lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah diberi label. Suspensi bakteri yang telah dipersiapkan sebelumnya diambil 0,5 ml kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing tabung

#### HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan penelitian mengenai daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, maka didapatkan hasil sebagai berikut :

konsentrasi ekstrak biji pala dan dikocok hingga homogen. Campuran konsentrasi ekstrak biji pala dan suspensi bakteri diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam. Kekeruhan larutan hasil inkubasi diamati untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM). Selanjutnya, cairan kultur hasil inkubasi digoreskan pada media agar MHA menggunakan ose lalu diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam. Pertumbuhan koloni bakteri pada media agar MHA diamati dan dibandingkan dengan kontrol untuk menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM) terendah larutan ekstrak biji pala (Kumalasari, 2011).

Kontrol positif metode dilusi cair menggunakan campuran suspensi bakteri dengan larutan antibiotik kloramfenikol 2%. Kontrol negatif menggunakan campuran suspensi bakteri dan larutan DMSO 10%. Data KHM dan KBM pada masing-masing pengenceran hanya menyajikan hasil positif dan negatif.

Tabel 4.1 Data hasil penelitian daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan replikasi 4 kali

Konsentrasi Ekstrak Biji Pala	Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> pada media MHA				Keterangan
	I	II	III	IV	
25%	(+)	(+)	(+)	(-)	KBM
20%	(-)	(-)	(-)	(-)	KHM
15%	(-)	(-)	(-)	(-)	
10%	(-)	(-)	(-)	(-)	
5%	(-)	(-)	(-)	(-)	
0% (Kontrol Negatif)	(-)	(-)	(-)	(-)	
Kontrol Positif	(+)	(+)	(+)	(+)	

Keterangan tabel :

Positif (1) : Tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Negatif (2) : Terdapat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Kontrol Positif (+) : Berisi suspensi bakteri dan larutan antibiotik kloramfenikol 2%.

Kontrol Negatif (-) : Berisi suspensi bakteri dan larutan DMSO 10%.

## ANALISIS

### Uji Kruskal-Wallis Test Statistics(a,b)

	Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i>
Chi-Square	23,143
Df	6
Asymp. Sig.	,001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak Biji Pala

Berdasarkan hasil output SPSS diatas didapatkan nilai p – value adalah 0,001. Jika dibandingkan dengan nilai  $\alpha = 0,05$ , maka nilai p – value  $< 0,05$  sehingga dapat diambil kesimpulan  $H_0$  ditolak atau  $H_1$  diterima yang artinya data analisa pemberian ekstrak biji pala terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah tidak sama atau berbeda secara signifikan. Perbedaan secara signifikan diartikan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak biji pala terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

## PEMBAHASAN

Pengujian daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* menunjukkan hasil bahwa ekstrak biji pala mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Pengujian daya hambat ekstrak biji pala terhadap bakteri

*Escherichia coli* dengan metode dilusi cair menunjukkan bahwa nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 20% yang ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak biji pala terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 25% yang ditandai tidak adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*).

Berdasarkan data hasil uji *Kruskal-Wallis*, ditunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak biji pala terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak biji pala terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dipengaruhi adanya senyawa aktif yang terdapat dalam biji pala yaitu golongan fenol, minyak atsiri dan saponin. Senyawa aktif tersebut memiliki sifat antibakteri.

Daya kerja dari senyawa fenolik sebagai senyawa antimikroba yaitu dengan cara merusak membran sel/dinding sel sehingga senyawa tersebut mendapat akses ke sitoplasma tempat senyawa tersebut dapat menghambat mekanisme perbaikan sel, selain itu senyawa fenolik dapat membentuk ikatan dengan protein pada permukaan sel kemudian berpenetrasi ke dalam sel sasaran yang dapat menyebabkan sel bakteri lisis (Widyasari, 2014).

Minyak atsiri merupakan komponen campuran dari bahan yang tidak berbau, mengandung gugus fungsi hidroksil dan karbonil. Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk (Umar, 2012).

Saponin memiliki efek antibakteri, mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel, selain itu permukaannya yang mirip dengan detergen mengakibatkan saponin menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran yang dapat mengganggu kelangsungan hidup bakteri dan dapat menyebabkan kematian sel (Rijayanti, 2014).

Aktivitas daya hambat antibakteri dengan metode dilusi lebih efektif dibandingkan dengan metode lainnya karena pada metode dilusi cair bahan antimikroba yang digunakan dapat tercampur secara homogen dengan bakteri *Escherichia coli* sehingga lebih efektif dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* (Siregar, 2011).

Penelitian mengenai kemampuan ekstrak pala dalam menghambat pertumbuhan bakteri sudah pernah dilaporkan oleh beberapa peneliti. (Rumopa, 2016) melaporkan bahwa ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes* dengan metode sumuran konsentrasi 100%, 50%, 25% dan 12,5 %, ditemukan rata-rata zona hambat berturut-turut yaitu 25,16 mm, 21 mm, 19,16 mm, 16,16 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Ditemukan rata-rata zona hambat berturut-turut yaitu 24,16 mm, 23,16 mm, 20,66 mm, 18,16 mm untuk bakteri

*Streptococcus pyogenes*. (Kaawoan, 2016) melaporkan bahwa ekstrak buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) mempunyai daya hambat terhadap bakteri penyebab periodontitis *Porphyromonas gingivalis*.

Pada penelitian ini menggunakan antibiotik Kloramfenikol. Mekanisme kerja Kloramfenikol yaitu dengan cara menghambat sintesis protein dan berspektrum luas terhadap bakteri gram positif dan negatif serta bakteri anaerob (Dian, 2012).

### KESIMPULAN

Ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 20%. Nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 25%, tetapi ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) tidak bisa dijadikan sebagai obat, karena perbedaan konsentrasi antara Kadar Bunuh Minimum (KBM) ) ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) yang jauh dengan larutan antibiotik Kloramfenikol 2%.

### SARAN

Bagi penelitian selanjutnya diharapkan dapat menggunakan minyak atsiri murni biji pala (*Myristica fragrans*) untuk mengetahui kemampuan antibakteri selain bakteri *Escherichia coli*, selain itu perlu dilakukan uji daya hambat ekstrak biji pala terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vivo*. Bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan pengujian daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi antara 20% -

25% untuk menentukan KHM dan perlu dilakukan pengujian daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi lainnya selain metode *disc diffusion*.

eri *Escherichia coli*, tetapi perlu dilakukan uji toksisitas terlebih dahulu untuk mengetahui efek yang diperoleh jika dikonsumsi dengan jumlah yang banyak dan dalam jangka waktu yang lama.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Dian, Mahardika. 2012. *Chloramphenicol*.
- Fitriani dkk. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) Terhadap Shigella flexneri Secara In Vitro*. Tanjungpura: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Gupta, A.D., Bansal, V.K., Babu, V., & Maithil, N. 2013. *Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (Myristica fragrans Houtt)*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11(1), pp.25-31.
- Hari. 2012. *Obat Herbal Nusantara*. [Online]. Tersedia: <http://obatherbalnusantara>.
- Jawetz., Melnick., & Adelberg. 2015. *Microbiology*. Edisi 25. Jakarta.
- Kawoon, Pricillia T., Abidjulu, Jemmy., Siagian, Krista V. 2016. *Uji daya hambat ekstrak buah pala (myristica fragrans Houtt) terhadap bakteri penyebab periodontitis porphyromonas gingivalis secara in vitro*. Manado : FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Kumalasari dan Sulistyani. 2011. *Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong* (*Anredera cordifolia (Tenore) Steen.*) Terhadap *Candida albicans* Serta *Skринing Fitokimia*. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 01(02) : 51-56.
- Nurhalimah, Hanny., Wijayanti, Novita., Widyaningsih, Tri Dewanti. 2015. *Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea indica L.) Terhadap Mencit Jantan yang Diinduksi Bakteri Salmonella thypimurium*. Malang: *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3 No 3 p.1083-1094.
- Rahmawati, U., E. Suryani, A. Mukhlisan. 2012. *Pengembangan Repository Pengetahuan Berbasis Ontologi (Ontology-Driven Knowledge Repository) Untuk Tanaman Obat Indonesia*. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1):1-6.
- Rijayanti. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (Mangifera foetida L.) Terhadap Staphylococcus aureus Secara In vitro*.
- Rumopa, Praisia M.E., Awaloei, Henoch., & Mambo, Christi. 2016. *Uji Daya Hambat Ekstrak Biji Pala (Myristica fragrant) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus pyogenes*. Manado: Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Siregar, B. 2011. *Daya Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (Phaleria Macrocarpa [Scheff.] Boerl) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans (In*

- Vitro*). Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara Medan.
- Tan, K.P., Khoo, H.E., & Azrina, A. 2013. *Comparison of Antioxidant Components and Antioxidant Capacity in Different Parts of Nutmeg (Myristica fragrans)*. *International Food Research Journal*. 20(3): 1049-1052.
- Umar. 2012. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (Androdera cordifolia (TEN) steenis) Terhadap Kesembuhan Luka Infeksi Staphylococcus aureus Pada Mencit*. Surabaya: Poltekkes Surabaya.
- Widyasari, Benardine Anita. 2014. *Aktivitas Antifungi Minyak Biji Pala (Myristica fragrans) Terenkapsulasi pada Pure Jambu Biji merah (Psidium guajava)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.