

## Antimicrobial Activity Of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) Fruit Methanol Extract Againts Growth *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Nurhasanah<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>FKIP Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Khairun  
Jl. Bandara Baabullah Kampus I Akehuda (0921) (3121314). E-mail: nurhasanah\_unk@yahoo.co.id, HP: 085394745252

### ABSTRAK

Nutmeg (*Mirystica fragrans* Houtt) were one of famous spices comes from North of Mollucas. Nutmeg have many important part of itself for economic value especially it mace and seed but it fruit mostly unusefull. Chemical compounds within nutmeg fruit such atsiri oil have a promising component as an antimicrobial compound.

The aim of this research were to determine antimicrobial activity and minimum inhibition concentration of nutmeg fruit againts growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by using metanol as a solvent. The study were conducted at PMIPA FKIP laboratory of Khairun Univercity. This was an experimental research by using completed randomized design which consist of fifteen concentration with three replication.

Statistical analizing showed that  $F_{hit} > F_{tab}$  (61,91) for *S.aureus* whereas 3, 81 for *E.coli* after applying methanol extract of nutmeg fruit for those bacterial growth, respectively. Neither for minimum inhibition concetration, *S.aureus* have a low MIC value (8%) than *E.coli* (10%), respectively). In conclusion extract of nutmeg fruit by using methanol had ability to inhibit the growth of *S.aureus* dan *E.coli* with MIC of *S.aureus* lower than MIC of *E.coli*.

**Keywords** : Nutmeg, antibacterial activity, MIC

Pala Banda (*Mirystica fragrans* Houtt) merupakan tanaman rempah yang sangat terkenal di kepulauan Maluku Utara. Nilai ekonomis tanaman ini terletak pada buahnya terutama bagian fuli dan bijinya, sedangkan daging buahnya masih terbatas pemafaatannya dan banyak terbuang sebagai limbah. Adanya kandungan senyawa kimia terutama minyak atsiri pada buah pala ternyata memiliki potensi sebagai antimikroba.

Antimikroba ini akan diuji terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* kedua bakteri

ini mewakili Bakteri Gram Negatif dan bakteri Gram Positif. *S. aureus* merupakan bakeri gram positif yang dapat menyebabkan infeksi pada luka biasanya berupa abses. Abses merupakan kumpulan nanah atau cairan dalam jaringan yang disebabkan oleh infeksi. Jenis-jenis abses yang spesifik diantaranya bengkak (*boil*), radang akar rambut (*folliculitis*) (Medigan T.M; Martinko M.J dan Parker Jack, 2005).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Marzuki, *et al.* (2008) dalam Agritek (2010), menyebutkan bahwa

ditemukan kandungan lemak serta protein dalam daging buah pala. Selain itu juga ditemukan pektin yang merupakan senyawa fenolik yang di keluarkan oleh buah dalam bentuk getah yang berwarna kecoklatan. Fenolik digunakan sebagai antibakteri. Biasanya fenolik terdiri dari molekul fenol yang berbeda secara kimiawi berfungsi menurunkan kualitas iritasi atau meningkatkan aktivitas antibakteri (Susanti, 2009)..

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri, konsentrasi daya hambat minimum (KHM) ekstrak daging buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan pelarut metanol.

#### **METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium MIPA, Universitas Khairun Ternate pada bulan Juni sampai November 2013. Lokasi pengambilan sampel di Kelurahan Tobenga Kecamatan Ternate Tengah Kota Ternate. Biakkan *S.aureus* merupakan koleksi Laboratorium MIPA Unkhair Ternate. Alat – alat yang digunakan antara lain: erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, *blender*, timbangan analitik, labu ekstraksi, batang pengaduk, *stirer*, cawan petri, botol vial, pembakar bunsen, *Jarum ose*, *pinset*, *inkubator*, *laminar air flow*, wadah, termometer, autoklaf, mikropipet, mistar berskala, *cup borner* dan alat fotografi. Bahan – bahan yang digunakan antara lain : Daging buah pala (*Myristica fragrans* Houtt), bakteri uji (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* aquades steril, metanol 70%, alkohol 75%, 90%, 95%, spirtus, NA, NB, kertas label dan *aluminium foil*.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium, sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 15

perlakuan dan setiap perlakuan terdiri atas 3 ulangan.

#### **Persiapan sampel daging buah pala**

Buah pala yang telah diambil dicuci dengan aquades steril dibelah dua iris tipis, dioven pada suhu 40<sup>0</sup> C hingga kering dan beratnya konstan. Sampel yang telah kering (*simplisia*) diserbukkan dengan menggunakan *blender*.

#### **Pembuatan ekstrak daging buah pala**

Sampel diekstrak dengan larutan metanol 70% sebanyak 100 ml dengan menggunakan labu ekstraksi, dengan cara di kocok sebanyak 15 kali kocok dengan 3 kali ekstraksi. Hasil ekstraksi merupakan ekstrak dengan konsentrasi 100% dan ditampung dalam botol vial steril. Selanjutnya dibuat serial pengenceran konsentrasi 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 9%, 8%, 7%, dan 6%, dengan menggunakan rumus pengenceran mengacu pada Husna, (2007).

#### **Pembuatan media pertumbuhan**

Nutrien Agar (NA) sebanyak 0,46 gram dilarutkan dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan aquades steril sebanyak 20 ml. Setelahnya dihomogenkan dengan magnetik *stirer* di atas *hotplate* sampai mendidih. Sebanyak 5 ml dituangkan masing-masing pada 3 botol vial. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama ± 30 menit sampai media memadat. Media agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri (Fatimawali *et al*, 2012) 2). Nutrien Brot (NB) dilarutkan di dalam erlemeyer dengan aquades sebanyak 20 ml selanjutnya di homogenkan dengan magnetik *stirer* sampai mendidih. Sebanyak 5 ml dituangkan masing-masing pada 3 botol vial. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit, didinginkan sebelum digunakan. Media pengujian dibuat dengan cara ditimbang Nutrien Agar (NA) sebanyak 2,3 gram lalu dilarutkan dalam 100 ml

aquades menggunakan erlemeyer, media dihomogenkan dengan *stirer* dan di *autoklaf*. Selanjutnya bakteri diinokulasi pada Media Agar miring dengan cara menggores. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 24 jam.

### Penyiapan bakteri uji *S. aureus* dan *E.coli*

Bakteri uji diambil 1 ose dari media NA miring dan dimasukkan dalam media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup> C selanjutnya bakteri uji siap di gunakan.

### Pengujian aktitas antibakteri ekstrak daging buah pala

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar dengan teknik sumuran agar. Bakteri uji secara aseptik dicampur dengan media NA yang baru dibuat dan masih hangat (suam – suam kuku) dengan perbandingan 1:3 dimana 1 adalah bakteri dan 3 adalah media. Media dibirakan memadat. Selanjutnya media yang telah padat secara aseptik dibuat sumuran berdiameter 5,5 mm menggunakan *Cup borrer* (pelubang gabus), kemudian sebanyak 15µl aquades (kontrol), 15µl metanol (kontrol), dan 15µl bagi tiap – tiap konsentrasi ekstrak daging buah pala (100% - 6%) di injeksikan pada media yang telah dibuat sumuran dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37<sup>0</sup>C dalam inkubator.

### Pengamatan dan pengukuran daya hambat ekstrak daging buah pala

Pengamatan dilakukan setelah 1 x 24 jam masa inkubasi. Daerah bening di sekitar sumuran merupakan adanya kepekaan bakteri terhadap antibiotik. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala atau bisa juga menggunakan jangka sorong dengan cara diameter keseluruhan dikurangi dengan diameter sumuran. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan NCCLS (*National Committe*

*for Clinical Laboratory Standards*), yaitu (R) resisten. Bila besarnya zona hambat 0-10 mm, intermediet (I) bila zona hambatan 11-19 mm, dan sensitif (S) bila besarnya zona hambatan sebesar di atas 20 mm (Noviana, H. 2004).

### Teknik pengumpulan data dan analisis data

Data hasil pengujian aktivitas ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* H) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* menggunakan pelarut metanol dianalisa secara statistik menggunakan metode anava tunggal, dengan taraf kepercayaan 1% dan 5%

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

### Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak daging buah pala Banda (*M. fragrans* Houtt) terhadap pertumbuhan *S. Aureus* dan *E. Coli*

Hasil perhitungan uji statistik terhadap ekstrak daging buah pala banda dengan menggunakan pelarut metanol terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat ringkasanya pada Tabel 1. dan 2. di bawah ini.

Tabel 1. Ringkasan Anava tunggal Ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) terhadap pertumbuhan *S.aureus*

| Sumber Variasi | JK            | Dk      | Mk           | F <sub>Hit</sub> | F <sub>Tab</sub> |      |
|----------------|---------------|---------|--------------|------------------|------------------|------|
|                |               |         |              |                  | 1%               | 5%   |
| UxK Dalam      | 54,17<br>3,28 | 8<br>30 | 6,77<br>0,11 | 61,91**          | 3,17             | 2,27 |
| Total          | 57,45         | 38      |              |                  |                  |      |

\*\* = Berbeda sangat nyata U = Ulangan, K = konsentrasi UxK = Ulangan dan konsentrasi

$$KV = \frac{\sqrt{Mkd}}{\text{rata - rata umum}} = 100\%$$

$$KV = \frac{\sqrt{0,11}}{113,19/45} = 100\% = 0,13$$

KV = Koefisien Variasi

Pada Tabel 1. menunjukkan bahwa penghambatan ekstrak daging buah pala Banda (*M. fragrans* Houtt) sangat berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*, hal ini dapat dilihat dari besarnya nilai  $F_{hitung}$  dibandingkan dengan  $F_{tabel}$ .

Tabel 2. Ringkasan anava tunggal ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) terhadap pertumbuhan *E. coli*

| Sumber Variasi | JK     | Dk | Mk           | $F_{Hit}$ | $F_{Tab}$ |      |
|----------------|--------|----|--------------|-----------|-----------|------|
|                |        |    |              |           | 1%        | 5%   |
| UxK            | 51,83  | 8  | 6,48<br>1,66 | 3,81*     | 3,17      | 2,27 |
| Dalam          | 50,01  | 30 |              |           |           |      |
| Total          | 101,84 | 38 |              |           |           |      |

\*\* = Berpengaruh sangat nyata; \* = berpengaruh nyata

U= Ulangan; K = konsentrasi ekstrak daging buah pala; UxK = Kosentrasi dan ulangan

$$KV = \frac{\sqrt{Mkd}}{\text{rata - rata umum}} = 100\%$$

$$KV = \frac{\sqrt{1,66}}{90,7/45} \times 100 \% = 0,14 \%$$

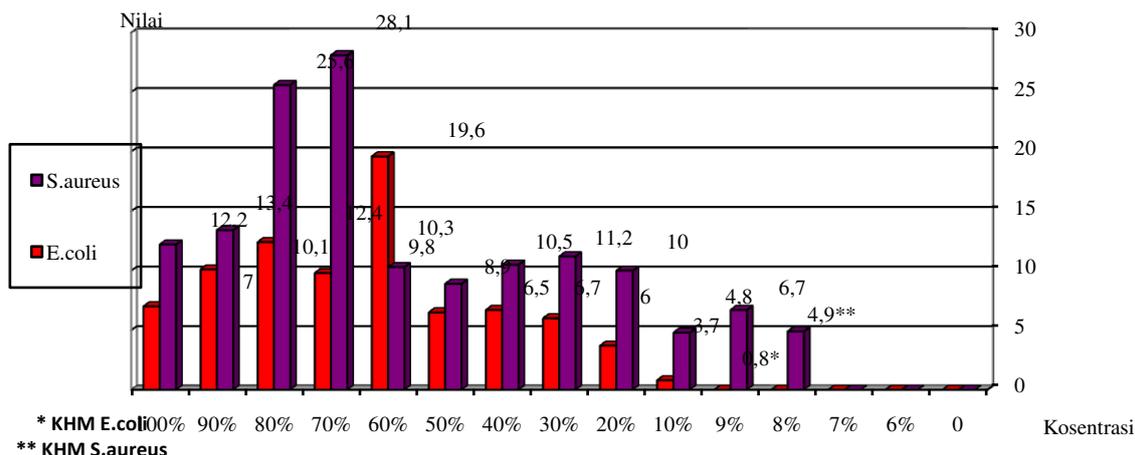
KV = Koefisien Variasi

Pada Tabel 2. di atas menunjukkan bahwa penghambatan ekstrak daging buah pala banda (*M. fragrans* Houtt) sangat berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan *E.coli* , hal ini dapat dilihat dari besarnya nilai  $F_{hitung}$  dari  $F_{tabel}$ .

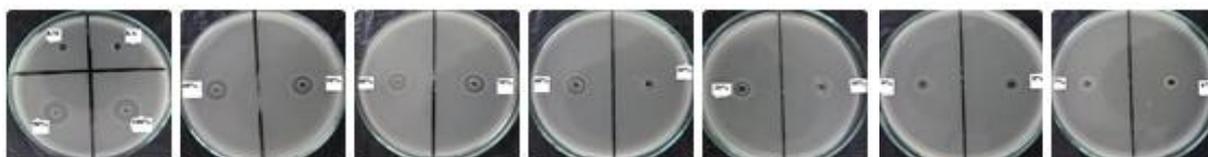
### Penentuan Nilai Kosentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak daging buah pala Banda (*M. fragrans* Houtt) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

KHM ditentukan dengan cara menghitung diameter zona hambat, dimana KHM adalah konsentrasi antimikrob terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Penentuan KHM (MIC), yaitu penentuan kosentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Fatimawati, *et al.* 2008). Setelah diketahui ekstrak daging buah pala berpengaruh (memiliki potensi antibakteri) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* selanjutnya ditentukan nilai KHM untuk kedua kelompok bakteri tersebut.

Diagram batang di bawah ini merangkum penentuan nilai KHM ekstrak daging buah pala dengan menggunakan pelarut metanol terhadap penghambatan pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*. Berdasarkan hasil pengamatan Gambar 1., dapat diketahui nilai kosentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daging buah pala banda yang masih menghambat pertumbuhan *S. aureus* adalah pada konsentrasi 8 % sedangkan untuk *E. coli* pada konsentrasi 10%.



Gamabr 1. Diagram batang penentuan nilai KHM ekstrak daging buah pala Banda (*M. fragrans Houtt*) terhadap *S.aureus* dan *E.coli*



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daging buah pala (*M. fragrans Houtt*) terhadap *S.aureus* dan *E.coli* menggunakan pelarut metanol

Keterangan gambar :

- |                        |                   |                    |                    |                   |
|------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| 1. KA: Kontrol Aquades | 5. Kosentrasi 80% | 9. Kosentrasi 60%  | 13. Kosentrasi 20% | 17. Kosentrasi 7% |
| 2. KM: Kontrol Metanol | 6. Kosentrasi 70% | 10. Kosentrasi 50% | 14. Kosentrasi 10% | 18. Kosentrasi 6% |
| 3. Kosentrasi 100%     | 7. Kosentrasi 60% | 11. Kosentrasi 40% | 15. Kosentrasi 9%  |                   |
| 4. Kosentrasi 90%      | 8. Kosentrasi 50% | 12. Kosentrasi 30% | 16. Kosentrasi 8%  |                   |

## Pembahasan

### Uji Daya Hambat Ekstrak Daging Buah Pala Banda (*M. fragrans Houtt*)

Daging buah pala mengandung beberapa nutrisi seperti lemak dan protein nabati. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Marzuki, *et al.* (2008) dalam Agritek, (2010) menyebutkan bahwa ditemukan kandungan lemak serta protein dalam daging buah pala. Selain itu juga ditemukan pektin yang merupakan senyawa fenolik yang di keluarkan oleh buah dalam bentuk getah yang berwarna kecoklatan. Fenolik digunakan sebagai antibakteri. Biasanya fenolik terdiri dari molekul fenol yang berbeda secara kimiawi berfungsi menurunkan kualitas iritasi atau

meningkatkan aktivitas antibakteri (Susanti, 2009).

Putra & Verawati, (2011) melaporkan adanya kadar flavonoid yang tinggi terdapat pada kunyit, jahe dan buah pala. Kandungan zat yang terdapat di dalam daging buah pala seberat 100g kira-kira terkandung air 10g, protein 7g, lemak 33g, minyak yang menguap dengan komponen utama *mono terpen hidrokarbon* seperti *pinen*, *sabinen*, asam monoterpen, dan aromatik eter seperti *myristicin* dan *elimisn* (Rahardian D. D. 2009).

Selain itu kulit buah pala juga mengandung minyak atsiri dan zat samak. Secara empiris komposisi daging buah pala bekerja saling bersinergis antara lain untuk meningkatkan nafsu makan, mengobati

gangguan pencernaan (Utami, 2011). Berdasarkan rangkuman analisis variansi tunggal (tersaji pada Tabel 1 dan 2), diketahui bahwa  $F_{hitung}$  lebih besar dari  $F_{tabel}$ , sehingga  $H_1$  diterima. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daging buah pala Banda (*M. fragrans* Houtt) berpengaruh terhadap pertumbuhan *S. aureus* dimana nilai  $F_{hitung}$  adalah 61,9 dan  $F_{tabel}$  3,17 pada taraf signifikan 1% dan 2,27 pada taraf signifikan 5%. Begitu juga terhadap *E.coli* dimana  $F_{hitung}$  adalah 3,81 dan  $F_{tabel}$  3,17 pada taraf signifikan 1% dan 2,27 pada taraf signifikan 5%.

Pada daging buah pala mengandung zat aromatik flavour yang terdiri dari minyak atsiri yaitu *myristicin* dan *monoterpen* (Utami, 2011). Kandungan *myristicin* dalam daging buah pala berdasarkan hasil penelitian Sipahelut (2010) menunjukkan lebih tinggi bila dibandingkan dengan minyak atsiri dari biji dan fuli.

Mengacu pada Jawetz, *et al.* (1992) dalam Suranto, *et al.* (2002) aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat lebih efektif dibandingkan dengan daya kerja masing-masing senyawa. Namun dimungkinkan juga, senyawa-senyawa antibakteri yang memiliki presentase terbesar dapat mempengaruhi keefektifan daya kerjanya. Disisi lain aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri juga kurang efektif dibandingkan dengan daya kerja masing-masing senyawa. -masing senyawa.

Ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) mengandung zat antibakteri. Zat yang terkandung dalam daging buah pala bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini dibuktikan dalam pemberian perlakuan ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) dengan berbagai konsentrasi berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*S. aureus*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli*). Struktur dinding sel bakteri Gram

negatif memiliki membran lapisan luar yang menyelimuti lapisan tipis peptidoglikan, struktur luar peptidoglikan ini adalah lapisan ganda yang mengandung fosfolipid, protein dan lipopolisakarida. Lipopolisakarida terletak pada lapisan luar dan merupakan karakteristik bakteri gram negatif sementara bakteri gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dimana di dalamnya mengandung senyawa teikoat dan lipoteikoat Peclzar & Chan (1988).

Zat antibakteri mempunyai berbagai cara dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Kerusakan pada salah satu struktur penyusun sel bakteri dapat menyebabkan perubahan-perubahan struktur dan kerja bakteri. Hal ini dapat mengakibatkan kematian sel (Jewetz, 1999) dalam (Husna, 2007). Membran sitoplasma letaknya tepat di bawah dinding sel sifatnya semiselektif permeabel, karena sifat ini maka membran sitoplasma mempunyai sifat-sifat penting dalam pertukaran zat-zat antara dinding sel sitoplasma merupakan bahan yang mengisi volume sel yang membatasi dinding sel dan membran juga didalamnya terdapat granula, spora, vacuola, dan tanda-tanda internal lainnya. Membran sitoplasma ini sangat berpengaruh penting terhadap kelangsungan hidup bakteri karena bila membran ini mengalami kerusakan maka dalam waktu singkat bakteri akan mati. Akteri mempunyai protoplasma yang di dalamnya tersebar butir-butir kromatin. Kromatin merupakan bahan inti berupa ADN, ARN dan protein yang meresap zat warna yang bersifat basa (Melliawati, R. 2009). Mekanisme kerja antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut bersama dinding sel mikroorganisme. Hal ini dapat dimungkinkan terjadi pada senyawa kimia yang terkandung di dalam daging buah pala, yang berperan dalam mengganggu fungsi sel mikroorganisme diantaranya menyusun dinding selnya (Wijaningsih, 2008). Ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt)

mempunyai asam folat. Senyawa asam ini menyebabkan pH media disekitar ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) menjadi sangat rendah, hal ini dapat mengakibatkan rusaknya membran sel bakteri (Drazat, 2007).

Adapun pelarut yang digunakan untuk membuat ekstrak mempengaruhi kadar senyawa kimia yang ada pada daging buah pala. Pada uji ini digunakan pelarut metanol karena merupakan pelarut universal yang bersifat polar yang dapat melarutkan senyawa- senyawa yang bersifat polar. Menurut Wijesekera, (1991) dalam (Armen, B.F. 2001), pada proses ekstraksi, pelarut yang masuk ke dalam sel bahan akan melarutkan senyawa bila kelarutan yang akan diekstrak sama dengan pelarut. Ditambahkan oleh Ketaren (1985) dalam (Armen, B. F. 2001) salah satu faktor paling penting dalam proses ekstraksi, pelarut harus memiliki daya larut yang baik, mempunyai titik didih yang cukup rendah agar mudah dalam penguapan.

Pada penentuan pelarut yang lebih cocok untuk melakukan deterpenasi dan ekstraksi terbukti bahwa metanol lebih baik dari etanol karena kemudahannya dalam proses pengenceran, pemisahan, dan penguapan (Armen, B. F. 2001). Sedangkan air digunakan sebagai pelarut pengenceran karena ekstrak metanol mudah larut dalam air karena bersifat polar, dan air dapat melarutkan alkaloid, saponin, terpenoid, minyak volatil, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, lendir, enzim, lilin, lemak, pektin, zat warna dan asam-asam organik (Cowan, 1999 dalam Sya'ban, N. 2012).

Metanol termasuk dalam agen ekstraksi golongan alkohol. Alkohol yang biasanya digunakan sebagai agen ekstraksi dalam ekstraksi adalah golongan alkohol rendah atau yang memiliki rantai atom C pendek seperti metanol, etanol, propanol dan butanol. Metanol lebih polar dibandingkan dengan etanol karena memiliki jumlah atom C yang lebih sedikit ,

sehingga senyawa yang terikat oleh kedua pelarut tersebut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Akan tetapi kedua pelarut tersebut termasuk golongan alkohol yang pada umumnya bersifat nonpolar. Senyawa yang diikat oleh etanol lebih bersifat nonpolar dibandingkan senyawa yang terikat oleh metanol. Pada pelarut alkohol ini senyawa yang berkhasiat obat banyak tertarik atau terlarut (List & Schmidt, 1989) dalam (Purwanti E, 2009).

Pemberian konsentrasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda terhadap zona hambat yang dihasilkan. Semakin luas daerah zona hambatan di daerah sekitar sumuran, maka semakin besar pula daya antimikroba yang terdapat pada ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt). Uji kepekaan terhadap antibiotik digolongkan kedalam tiga kriteria sesuai dengan NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), yaitu resisten (R) bila besarnya zona hambatan 0 - 10 mm, intermediate (I) bila zona hambatan 11-19 mm, dan sensitif (S) bila besarnya zona hambatan sebesar > 20 mm (Noviana, H. 2004).

#### **Penentuan Konsentrasi Hambat minimum (MIC/Minimum Inhibitor Concentration) Ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt)**

KHM ditentukan dengan cara menghitung diameter zona hambat, dimana KHM adalah konsentrasi antimikrob terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Penentuan KHM (MIC), yaitu penentuan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Ramadanti, 2008). Setelah diketahui ekstrak daging buah pala berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri (memiliki potensi antibakteri) terhadap *S. aureus* dan *E. coli* selanjutnya ditentukan nilai KHM untuk kedua kelompok bakteri tersebut. Nilai KHM *S. aureus* adalah pada konsentrasi 8%, sedangkan

nilai KHM pada *E. coli* adalah pada konsentrasi 10%.

Salah satu kriteria penentuan senyawa antimikroba yang ideal dari suatu bahan (dari alam maupun mikroorganisme) adalah mencari konsentrasi terkecil yang masih mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme /organisme lainnya dan memiliki spektrum yang luas. Hal ini ditunjukkan pada kemampuan senyawa antimikroba tersebut dalam menghambat pertumbuhan kelompok Gram positif dan Gram negatif (Peczar & Chan, 1988). Selain itu, zat antimikroba yang ideal juga memiliki toksisitas selektif. Istilah ini berarti bahwa suatu obat berbahaya bagi parasit, tetapi tidak membahayakan inang. Sering kali, toksisitas selektif lebih bersifat relatif dan bukan absolut; ini berarti bahwa suatu obat yang pada konsentrasi tertentu dapat ditoleransi oleh inang, dapat merusak parasit (Jawetz, *et al.* 1987 dalam Rufaidah, *et al* 2010).

Adanya perbedaan nilai KHM pada *S. aureus* dan *E. coli* dimana nilai KHM *S. aureus* lebih kecil dibandingkan dengan *E. coli* disebabkan perbedaan susunan dinding sel pada kedua bakteri tersebut berbeda. Dinding sel *S. aureus* terdiri dari peptidoglikan, senyawa teikoat dan lipoteikoat, sedangkan dinding sel *E. coli* terdiri atas lipopolisakarida (LPS), lapisan peptidoglikan yang tipis dan tidak memiliki asam teikoat. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif memiliki membran lapisan luar yang menyelimuti lapisan tipis peptidoglikan. Struktur luar peptidoglikan ini adalah lapisan ganda yang mengandung fosfolipid, protein dan lipopolisakarida. Lipopolisakarida terletak pada lapisan luar dan merupakan karakteristik bakteri Gram negatif sementara bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dimana di dalamnya mengandung senyawa teikoat dan lipoteikoat (Peczar & Chan, 1988). Bakteri

Gram positif lebih sensitif terhadap senyawa antimikroba dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (Dorman dan Deans, 2000 dalam Mawaddah, 2008). Hal ini sejalan dengan penelitian ini dimana nilai KHM pada *S. aureus* (bakteri Gram positif) lebih kecil dibandingkan dengan nilai KHM pada *E.coli* ( bakteri Gram negatif). Hal ini berarti *S. aureus* lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak metanol daging buah pala Banda. Hal ini didukung pula dengan pengujian daya atau aktivitas antibakteri ekstrak metanol terhadap kedua bakteri tersebut dimana secara statistik pengaruh ekstrak metanol daging buah pala Banda terhadap pertumbuhan *S. aureus* sangat nyata dibandingkan dengan *E. coli*. Orabi & Mossa (1991) dalam Latha *et al* (2005) melaporkan adanya aktivitas antimikroba dari *M. fragrans* Houtt terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *Candida albicans* pada nilai KHM 1 µg/ml dan 4 µg/ml berturut turut.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dapat dibedakan dalam empat kelompok, yaitu antimikroba yang dapat menghambat pembentukan dinding sel, sintesis dinding sel, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat sel (Peczar & Chan, 1988). Berbagai senyawa antimikroba pada konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba. Tidak ada satu pun senyawa antimikroba yang ideal untuk semua tujuan, karena terdapat perbedaan dalam sensitivitas sel mikroba terhadap senyawa antimikroba (Fardiaz, *et al* 1988). Senyawa antibakteri yang ideal adalah senyawa yang dalam konsentrasi terendah sudah mampu menghambat atau membunuh kelompok bakteri pada spektrum yang luas (mampu bekerja pada kelompok bakteri Gram positif maupun Gram negatif).

## KESIMPULAN

Dari penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak daging buah pala banda

terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan pelarut metanol dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*
2. Kosentrasi ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) mempunyai Kosentrasi Hambat Minimum pada *S.aureus* yaitu 8%, dan 10% pada *E. coli*

#### DAFTAR PUSTAKA

- Armen B.F. 2001. *Deterpenasi Minyak Pala (Nutmeg Oil) Dengan Metode Ekstraksi Metanol. (Skripsi).* Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas teknologi pertanian Intitut Pertanian Bogor.
- Drazat. 2007. *Meraup Laba dari Pala.* Agrol Media. Bogor.
- Fardiaz S. R, Dewanti, dan Suliantari. 1988. Senyawa Antimikroba. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Bogor. *Jurnal Biofarmasi* 2 (1) : 24-28.
- Latha, Sindhu, Suja, Geetha, Pushpangadan & Rajasekaran. 2005. Pharmacologi and chemistry of *Myristica fragrans* Houtt. – a review. Tropical Botanic Garden and Research Institut Palode, Trivandrum 695 562, kerala, India. *Jurnal of Spices and Aromatic Crops.* 14(2) : 94-101.
- Fatimawali, Winarsih S, Mintaroem K, Reddy, S.A. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol daun Mayana (*Couleur atropurpureus* L. Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeroginesa* Secara *In Vitro.* *Jurnal penelitian MIPA.* 2 (1) : 341-433.
- Husna R, 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Tumbuhan Meniram (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa.* *Skripsi.* Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri UIN) Malang. Madigan T. M, Martinko M. J dan Parker Jack. 2005. *Brock Biology Of Microorganism.* Eighth Edition. Prentice Hall International Inc. London.
- Meliawati R. 2009. *Eschericia coli* dalam Kehidupan Manusia. Penelitian Bioteknologi- LIPI. *Jurnal Bio Trends* 4(2) : 232-245.
- Noviana H. 2004. Pola Kepekaan antibiotika *Eschericia colly* yang Diisolasi dari berbagai spesimen klinis. Bagian mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Atma Jaya jakarta. *Jurnal kedokteran trisakti.* 23 (4) : 202-322.
- Peclzar, M. J. and Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi II.* (diterjemahkan oleh R. S. Hadioetomo, Teja Imam, SW. S. Tjitrosomo dan Sri Lestari Angka). Indonesia University Press, Jakarta.
- Purwanti E. 2009. Profil Komponen Bioaktif Tanaman Kavakava (*Pipermenthysticum, forst, F*) dengan Pelarut Etanol Dan Metanol. Lembaga Penelitian Universitas Muhammadiyah Malang. <http://www.biolineorg.br/request.PDF> (online) diakses 8 Agustus 2013.
- Rahadian, D. D. 2009. Pengaruh Ekstrak Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Dosis 7,5 mg/25grbb Terhadap Waktu Induksi Tidur dan Lama Waktu Tidur Mencit balb/c Yang diinduksi Thiopental. (*Skripsi*). Fakultas Kedokteran Diponegoro Semarang.
- Rufaidah R, Assari A. 2010. Penentuan *Minimum Inhibitor Concetration* (MIC) dari Suatu Sediaan Uji Berpotensi Sebagai Antibiotik. Laboratorium Mikrobiologi

- Farmasi Fakultas Farmasi  
Universitas Padjajaran. Bandung.  
*Jurnal Penelitian Biologi*. 2 (2)  
: 28-56.
- Ramadanti A. I. 2008. Uji aktivitas  
Antibakteri Ekstrak Bawang Putih  
(*Allium sativum* Linn)  
Terhadap Bakteri *Escherichia coli*  
*In Vitro*. (Skripsi). Program  
Pendidikan Sarjana Fakultas  
Kedokteran. Semarang.
- Sipahelut, G.S. 2010. Isolasi Dan  
Identifikasi Minyak Atsiri Dari  
Daging Buah Pala (*Myristica*  
*fragrans* Houtt). Fakultas Pertanian  
Universitas Patimura–Ambon.  
*Jurnal Agroforestri*. 5 (2) : 295-  
299.
- Suranto, Rachmawati I, Ratna S. 2002.  
Aktivitas Penghambatan Minyak  
Atsiri dan Ekstrak Kasar Biji  
Pala (*Myristica fragrans* Houtt)  
dan (*Myristica fattua* Houtt)  
terhadap pertumbuhan bakteri  
*Xantomonas compestris* Oammel  
asal Tanaman Brokoli (*Brassica*  
*oleracea var. Italica*). Jurusan  
Biologi FMIPA UNS  
Surakarta. *Jurnal Biofarmasi* 1(1) :  
20-24.
- Susanti A. 2009. Daya Antibakteri Ekstrak  
Metanol Daun Beluntas (*Pluchea*  
*indica less*) Terhadap *Escherichia*  
*coli* Secara *in vitro*. (Skripsi).  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga.
- Sya'ban N. 2012. Uji Daya Hambat  
Ekstrak Daging Buah Asam Jawa  
(*Tamarindus indica*) terhadap  
Pertumbuhan Bakteri Patogen  
*Staphylococcus aureus* Secara  
*In Vitro*. (Skripsi Tidak  
dipublikasi). FKIP PMIPA  
Pendidikan Biologi Universitas  
Khairun Ternate.
- Wijaningsih. 2008. Pengaruh Volume dan  
Kosentrasi Pelarut pada Isolasi  
Trimiristin dari Limbah Buah Pala.  
Departemen Teknik Kimia  
Fakultas Teknik Universitas  
Sumatra Utara. Medan. *Jurnal*  
*Teknologi Proses*. 5 (1) 64-67.
- Utami, S. 2011. Pengaruh Penggunaan  
Daging Buah Pala (*Myristica*  
*frangrans* Houtt) Pada  
Kepadatan Kandang Yang Berbeda  
Terhadap Kinerja Ayam  
Broiler. (Tesis). Universitas Gadjah  
Mada Yogyakarta.