



UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN PALA (*Myristica fragrans* Houtt) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Hardiana¹, Fauziah², dan Safriani³

¹Akademi Analis Farmasi dan Makanan Banda Aceh
corresponding Author E-mail : hardiana7011@gmail.com

ABSTRAK

Pala dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan multiguna karena setiap bagian tanaman dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri makanan, minuman, dan obat-obatan. Daun pala merupakan salah satu bagian tanaman pala yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, karena mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan tanin yang mengandung sifat seperti *fenol*, dimana senyawa *fenol* mampu memutuskan ikatan peptidoglikan yang dapat merusak dinding sel bakteri. Penelitian ini dilakukan untuk menguji daya hambat ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun pala pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu *diffusi disk* (cara cakram), dengan menggunakan suatu kertas (*paper disk*). Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% zona bening yang terbentuk (11 mm), 40% (13mm), 60% (13,5 mm), dan 80% (15 mm). Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pala mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan respon hambatannya kuat.

Kata kunci: Daun pala, *Staphylococcus aureus*, uji daya hambat

ABSTRACT

Nutmeg is known as a spice plant that has high economic value and is multipurpose because every part of the plant can be used in various food, beverage and medicinal industries. Nutmeg leaf is one part of the nutmeg plant that can be used as traditional medicine and is able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria, because it contains secondary metabolites such as flavonoids, saponins, and tannins that contain phenol-like properties, where phenolic compounds are able to break the peptidoglycan bonds that can damage the walls of the stomach. bacterial cells. This study was conducted to test the inhibitory power of nutmeg leaf ethanol extract (*Myristica fragrans* Houtt) which aims to determine the inhibition of nutmeg leaf ethanol extract at concentrations of 20%, 40%, 60%, and 80% against the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. The method used in this study is disk diffusion (disc method), using a paper disk. The results obtained showed that at a concentration of 20% the clear zone formed (11 mm), 40% (13mm), 60% (13.5 mm), and 80% (15 mm). It can be concluded that the ethanol extract of nutmeg leaves is able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria with a strong inhibitory response.

Keywords: nutmeg leaf, *Staphylococcus aureus*, inhibitory test

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan iklim tropis, kaya akan berbagai jenis tanaman yang dapat tumbuh dengan mudah dan dapat dijadikan sebagai oabat- obatan, salah satunya adalah tanaman pala. Negara Indonesia merupakan produsen pala terbesar di dunia berkisar antara

70-75%, hal ini menunjukkan bahwa keberadaan daun pala sangat melimpah (Palimaja *et al*, 2012). Pala dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan multiguna karena setiap bagian tanaman dapat di manfaatkan dalam berbagai industri maupun obat-obatan. Daun pala merupakan salah satu bagian tanaman dapat dijadikan sebagai obat tradisional, karena didalam daun pala terdapat metabolit skunder. Zat kimia yang terkandung dalam daun pala diataranya alkaloid, terpenoid, tanin, dan flavonoid yang mengandung sifat seperti fenol, dimana senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan yang dapat merusak dinding sel bakteri (Rastuti *et al*, 2013).

Pemanfaatan daun pala pada masyarakat di perkampungan biasanya digunakan sebagai obat untuk mengatasi bau mulut yang bertanda keracunan dalam system pencernaan, kemudian dijadikan sebagai obat sakit gigi, serta obat bisul atau infeksi kulit yang dipercai dapat menyembuhkan atau dapat meredakan nyeri pada kulit akibat terinfeksi bakteri, dikarenakan daun pala yang bersifat menyejukan atau bersifat mentol. Penyakit infeksi masih menempati urutan teratas kesakitan dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Infeksi ini akan menyebabkan kerugian fisik dan finansial. Penyebaran sumber infeksi ini dapat melalui berbagai perantara yang dikenal sebagai vektor, yakni udara, hewan benda-benda, dan juga manusia. (Triana, 2014).

Umumnya masyarakat dalam mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri sering menggunakan antibiotik. Pemakaian obat sintesis seperti antibiotik ini memiliki efek samping seperti menimbulkan reaksi alergi, serta harganya yang mahal dan sukar di dapat. Selain itu pemakaian antibiotik secara berlebihan dan kurang terarah dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap mikroorganisme (Tiara *et al*, 2018). Salah satu mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia yaitu *Staphylococcus aureus* (Fatimah *et al*, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rastuti *et al*, 2012. Yaitu aktivitas antibakteri minyak atsiri daun pala terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa, zona hambat minyak atsiri daun pala 25%, tetrasiklin HCL 25%, dan etanol untuk menghambat *Staphylococcus aureus* berturut-turut sebesar 26,08 mm, 28,75 mm, dan 0 mm. Sedangkan hasil penelitian yang dilakukan Rumopa *et al*, 2016. Uji daya hambat ekstrak biji pala terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, ada tiga tahapan pengulangan dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, rerata zona hambat yang di dapat yaitu 16,6 mm, 19,16 mm, 21 mm, 25,16 mm, ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin besar zona hambat yang di dapat.

Dari Uraian Latar Belakang di atas, dengan adanya kepercayaan masyarakat terhadap daun pala dapat menyembuhkan berbagai infeksi dan penyakit dalam tubuh serta diperkuat dengan aadanya kandungan metabolid sekunder dalam daun pala, penelitian ini sangat penting dilakuakn untuk membuktikan apakah daun pala dapat menyembuhkan infeksi kulit maupun organ tubuh yang disebabkan oleh bakteri yang bersifat patogen seperti *Staphylococcus aureus*.

METODE

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental Laboratorium untuk menguji daya hambat ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans Houtt*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *Difusi Disk* (cara cakram). Pengujian ini dilakukan dengan variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80%.

Alat dan bahan yang digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jarum ose, cawan petri ukuran besar, erlenmeyer 250 ml, labu ukur 10 ml, tabung reaksi, kapas, lampu spiritus, beaker glass 250 ml, gelas ukur 50 ml, pipet tetes, kaca arloji, bunsen, aluminium foil, pinset, batang pengaduk, kertas saring, timbangan analitik, *rotary evaporator*, pengaris dan peralatan gelas lainnya (Isnaeni dkk, 2017). Bahan yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, daun pala, etanol 96%, aquades, antibiotik Amoksisilin, *Mueller hinton Agar* (MHA), dan *Nutrien Borth* (NB).

Prosedur Kerja

Persiapan Sampel

Sampel berupa daun pala segar yang dikumpulkan dan dibersihkan dari sisa kotoran atau pengotor, selanjutnya di cuci dibawah air mengalir sampai bersih, daun pala ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam suhu ruang, setelah kering daun pala di blender hingga membentuk serbuk yang homogen.

Pembuatan Ekstrak Daun Pala

Ditimbang serbuk daun pala sebanyak 100 gram lalu dimasukkan kedalam wadah kaca, direndam serbuk tersebut dengan etanol 96% sebanyak 500 ml, lalu ditutup, di tunggu selama 48 jam,. Disaring melalui corong kaca yang dilapisi dengan kertas saring, hingga ampas dan sari terpisah, dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Dilakukan pengenceran untuk memperoleh konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh alat di cuci bersih dan dikering anginkan. Kemudian alat -alat tersebut di bungkus dengan kertas buram seperti gelas kimia, erlenmeyer, cawan petri, pipet ukur, tabung reaksi, labu ukur, corong kaca, di sterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C serta alat-alat yang terbuat dari logam seperti spatula dan pinset di sterilkan dalam oven pada suhu 160°C selama 2 jam. Sedangkan batang bengkok dan ose bulat disterilkan dengan cara melewati nyala bunsen.

Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji 20%, 40%, 60% dan 80% b/v untuk masing masing ekstrak ditimbang 0,4 g, 0,8 g, 1,2 g, dan 1,6 g dengan jumlah keseluruhannya yaitu 4 gram. ekstrak etanol daun pala kemudian masing-masing ekstrak dilarutkan dalam 2ml aquadest steril.

Pembuatan Medium

Pembuatan Nutrien Borth (LB)

Ditimbang media NB sebanyak 1,6 gram di atas neraca analitik, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest 100 ml. Lalu dipanaskan di atas penangas air sampai mendidih hingga larut dengan media, selanjutnya ddisterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dan dituangkan 5 ml kedalam tabung reaksi (Fauziana, 2019).

Pembuatan Muller Hinton Agar (MHA)

Ditimbang media MHA sebanyak 4,8 gram diatas neraca analitik, dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml, dipanaskan diatas penangas air sampai mendidih dan disterilkan dengan alat autoclave selama 15 menit, dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 10 ml dan biarkan hingga memadat (Isnaeni, 2017).

Peremajaan Bakteri

Diambi 1 koloni bakteri *Staphylococcus aureus*, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi media NB dan di larutkan menggunakan ose bulat diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam (Muharni, 2017).

Uji Daya Hambat

Diambil 1 mL suspensi bakteri uji, inokulasikan ke media MHA secara merata dengan cara *spread plate* dan biarkan selama 3 menit sampai suspensi bakteri meresap kedalam media. Secara aseptik, letakkan 1 disk antibiotik, dan 4 *disk blank* (yang mengandung berbagai konsentrasi larutan uji), serta 1 *disk blank* kontrol negatif (yang mengandung pelarut) pada permukaan media MHA. Setiap *paper disk* di inokulasikan dengan jarak tertentu secara teratur, agar tidak terjadi *overlapping* zona hambat yang terbentuk. Kemudian beri label pada dasar petri secara benar, di inkubasikan selama 48 jam. Amati pertumbuhannya dan ukur diameter zona jernih yang terbentuk di sekitar *paper disk* dengan jangka sorong/penggaris (Penuntun praktikum Mikrobiologi Lanjutan, 2019).

Pengamatan dan Pengukuran

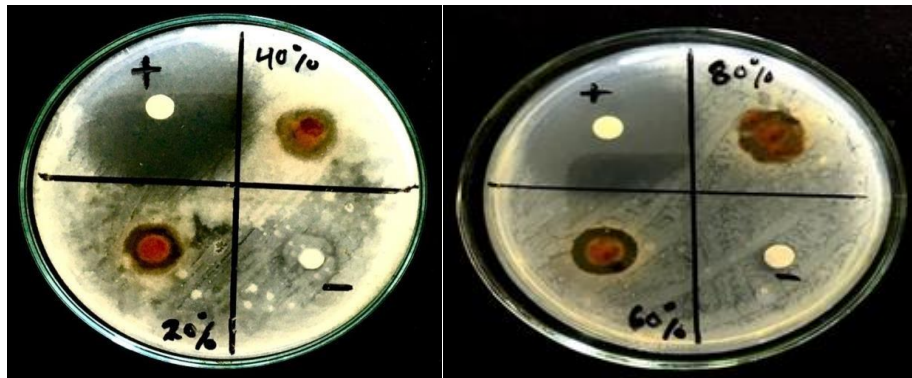
Pengamatan zona hambat pada cawan petri dilakukan setelah dikeluarkan dari inkubasi selama 24 jam dari inkubator, kemudian dilakukan pengukuran terhadap zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Pada saat pengukuran dilakukan cawan petri terlebih dahulu dibalikkan sehingga terlihat jelas zona hambat yang transparan disekitar kertas cakram. Jangka sorong diletakkan pada permukaan cawan petri yang tertutup tepat diatas zona hambat yang diukur. Selanjutnya pembacaan dilakukan pada jangka sorong sesuai dengan diameter yang ditunjukkan dalam satuan millimeter (mm). Pembacaan hasil positif apabila terdapat zona hambat disekitar kertas cakram, berarti ekstrak dari daun pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang diuji mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus* dan pembacaan negatif apabila disekitaran kertas cakram tidak terbentuk zona bening.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil dengan konsentrasi 20% (11 mm), 40% (13 mm), 60% (13,5 mm), dan 80% (15 mm). Pada uji difusi disk zona hambat yang terbentuk menunjukkan ekstrak etanol daun pala mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini dimulai dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80% dengan menggunakan ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif. Ciprofloxacin termasuk golongan obat yang disebut antibiotik kuinolon, yang digunakan untuk mengobati berbagai infeksi bakteri. Ciprofloxacin berkerja dengan menghentikan pertumbuhan bakteri (Rachman, 2019). Sedangkan kontrol negatif menggunakan aquadest yang berfungsi untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Metabolit sekunder daun pala yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang memiliki sifat seperti fenol, senyawa ini memiliki potensi sebagai antibakteri dimana senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan dalam usahanya menerobos dinding sel, setelah menerobos dinding sel senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran nutrisi sel dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel (seperti protein) sehingga terjadi kerusakan pada membran sel bakteri yang mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme bakteri. Hal inilah menjadi dasar adanya zona bening yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun pala (Suerni, 2013).

Pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% dapat dikatakan bahwa semua konsentrasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona bening, sesuai dengan tabel 1. Penelitian ini menggunakan metode difusi disk, dasar pemilihan metode ini adalah karena cepat, mudah, dan sederhana dalam pengerjaannya (prayoga, 2013).



Gambar 1. Hasil zona hambat uji daun pala (*Myristica fragrans* Houtt) pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% dapat dikatakan bahwa semua konsentrasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona bening, sesuai dengan Tabel 1. Penelitian ini menggunakan metode difusi disk, dasar pemilihan metode ini adalah karena cepat, mudah, dan sederhana dalam pengerjaannya (prayoga, 2013).

Tabel. 1. Hasil Zona Hambat Ekstrak Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi % ekstrak etanol daun pala	Diameter zona hambat terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)
Ciprofloxacin (+)	37,5
Aquadest (-)	-
20%	11
40%	13
60%	13,5

80%	15
-----	----

Tabel 1. menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pala (*Myristica fragrans* Houtt) menunjukkan bahwa 100% daun pala mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang berbeda yaitu pada konsentrasi konsentrasi 20% (11 mm), 40% (13 mm), 60% (13,5 mm), dan 80% (15 mm).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pala mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20% rata-rata diameter zona hambatnya 11 mm, 40% (13 mm), 60% (13,5) dan konsentrasi 80% (15 mm) dengan respon hambatan di kategorikan kuat.

Saran

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengujian pada: Konsentrasi yang lebih rendah; Menggunakan metode yang lain seperti metode dilusi; Menguji pada ekstrak biji pala; Menguji pada ekstrak biji pala dengan metode difusi disk (cara cakram); Menguji keseluruhan dari tanaman pala terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* serta pada bakteri patogen lain nya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, Amri. Meriatna, & Anita S.F. 2013. Pembuatan Pewarna Makanan Dari Kulit Buah Manggis Dengan Proses Ekstraksi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. Vol. 2. 2: 1-15.
- Bailey, B.K. 1996. *Performance of ethanol as a transportation fuel, dalam hand Book On Bioethanol : Production And Utilization*. C.E., Wayman, Taylor & Francis (Editor). Washington, hal.37-60.
- Ely J.K. Frans G.I, & Henny A.D. 2017. Karakteristik *Staphylococcus aureus* Yang Diisolasi Dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. 20. 1: 188-198.
- Fatimah, Siti, Fitri N, & Islamiati B. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleracea var. capitata f. Alba*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Biogenesis*. Vol 4. 2: 102-106.
- Isnaeni D, Ajeng T.R, & Tri L. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Daging Buah Rumbia (*Metroxylon sagu* Rottb) Asal Jaya Pura Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Majalah Farmasi Nasional*. Vol 14. 2: 24-25.
- Longsdon, J.E. 1994. *Ethanol Dalam Kirk-Othmer Encyclopedia Of Chemical Technology*. J.I Kroschwitz and M.H. Grant. John Wiley & Sons Inc (Editor). Edisi 4. VOL. 9 : 812-860.
- Muharni, Fitrya, Sofa Farida . 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi Di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, Vol 7 No.2 Agustus 2017 Hal 127-135 : Sumatera Selatan.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 7. 2: 362-367.
- Palimaja W, Riry J, & Wattimena AY. 2012. Pala (*Myristica fragrans* houtt) Belum Menghasilkan dan Menghasilkan di Desa Hutumuri Kota Ambon Komunitas Gulma Pada Tanaman. *Jurnal Agrologia*; Vol.1. 2: 134-142.
- Pelczar, M, J, & Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi* Edisi 2. UI-Press: Jakarta.

- Poelongan, M., & Praptiwi, P. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana linn*). Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. *Jurnal Libang Kesehatan*. Vol.20. 2: 65-69.
- Prayoga, E. 2010. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper bettle L.*) Dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Jakarta: Uiversitas Islam Negri Syarif Hidayatullah.
- Radji, Maksum. 2010. Buku Ajar Mikrobiologi. Jakarta: EGC. Halaman 179-185. Rastuti U, Widyarningsi S, Krtika, D, & Ningsi D. 2012. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun pala dari Bayumas terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escercia coli* serta identifikasi senyawa penyusunnya. Purwokerto: Universitas Jendral Sudirman. 197-203.
- Rumopha P.M.E, Awaloei H, & Mambo C. Uji daya hambat eksrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus pyhgenes*. *Jurnal e-Biomedik*. Vol. 2. 4: 2-4.
- Salasia, S.I.O, Khusnan, Sugiono. 2009. Distribusi Gen Enterotoksin *Staphylococcus aureus* dari Susu Segar dan Pangan Asal Hewan. *Jurnal Veteriner*. Vol. 10 .3: 111-117.
- Sangaji, Ahkam. 2015. Mengenal Tanaman Pala. <http://sangaji-ahkam.blogspot.com/2015/12/mengenal-tanaman-pala.html/m=1> (diakses tanggal 21 Januari 2020).
- Satria, W.P. 2015. *Kitab Herbal Nusantara*. Yogyakarta: Kata Hati. Halaman 214.
- Suern E, Alwi M, Guli MM. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus L. Merr*), Salak (*Salacca edulis Rinw.*) dan Mannga Kweni (*Mangifera odorata Griff.*) Terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biocelbes*. Vol 7 (1): 35-47.
- Tiara D.A, Ines T.H, Herry M.A, Anita N. 2018. Pemisahan Senyawa 1,4- tripenol dan Safrol Dari Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica fragrans Houtt*) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Shingella dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 15. 1: 1693-8615.
- Triana, Dessy. 2014. Fekkuensi ♦-Lactamase Hasil *Staphylococcus aureus* Secara Iodometri di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. *Jurnal Gradien*. Vol. 10. 2: 992-995.