

# Jurnal Biotek

p-ISSN: 2581-1827 (print), e-ISSN: 2354-9106 (online)  
Website: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/biotek/index>

## Efektivitas Ekstrak *Myristica fragrans Houtt* Terhadap Bakteri Patogen *Pseudomonas aeruginosa* dan *Methicilin Resistensi Staphylococcus aureus*

Pramita Wally<sup>1\*</sup>, Andi Sitti Marwah<sup>1</sup>, Azril Fajar Warang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitas Muhammadiyah Maluku, Indonesia

\*Correspondence email: [pramitawally3@gmail.com](mailto:pramitawally3@gmail.com)

(Submitted: 22-09-2022, Revised: 30-11-2022, Accepted: 17-12-2022)

### ABSTRAK

Pala (*Myristica fragrans* Houtt), diperkaya dengan metabolit sekunder dan telah dipercayai secara tradisional bermanfaat dalam pengobatan infeksi dan inflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi ekstrak pala yang efektif dalam penghambatan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebagai bakteri patogen kulit. Jenis penelitian adalah eksperimen laboratorium untuk mengukur aktivitas antibakteri secara in-vitro melalui teknik *disk diffusion Kirby and Bauer*. Prosedur kerja meliputi uji fitokimia, ekstraksi serta uji aktivitas antibakteri. Hasil penelitian berdasarkan uji one way Anova menunjukkan bahwa  $f$ -hitung >  $f$ -tabel yang berarti bahwa ekstrak daging buah pala efektif dalam menghambat *P. aeruginosa* dan *Meticilin Resistensi Staphylococcus aureus* secara keseluruhan total perlakuan. Konsentrasi 80% merupakan konsentrasi tertinggi dengan rerata diameter zona hambat terhadap bakteri *P. aeruginosa* 17,3 mm sementara 19,6 mm untuk zona hambat *Methicilin Resistensi Staphylococcus aureus*. Nilai rerata diameter zona hambat tersebut dikategorikan kuat sebagai zat antibakteri.

**Kata Kunci:** antimikroba, MRSA, pala (*Myristica fragrans* Houtt), patogen, *P. aeruginosa*

### ABSTRACT

Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) is enriched with secondary metabolites and has been traditionally believed to be useful in the treatment of infection and inflammation. The aim of this study was to determine the effective concentration of nutmeg extract in inhibiting skin pathogenic bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). The research type was a laboratory experiment to measure antibacterial activity in vitro through Kirby and Bauer's disk diffusion technique. Work procedures included a phytochemical test, extraction, and antibacterial activity tests. The results of the study based on the one-way ANOVA test showed that  $f$ -count >  $f$ -table which means that nutmeg pulp extract was effective in inhibiting *P. aeruginosa* and *Meticilin Resistance of Staphylococcus aureus* as a whole total treatment. The concentration of 80% was the highest concentration, with an average diameter of the inhibition zone against *P. aeruginosa* of 17.3 mm and 19.6 mm for the inhibition zone of *Meticillin-Resistant Staphylococcus aureus*. The mean value of the diameter of the inhibition zone is categorized as a strong antibacterial substance.

**Keywords:** antimicrobial, MRSA, nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt), pathogens, *P. aeruginosa*



Copyright©2022

## PENDAHULUAN

Salah satu tanaman asli Indonesia, pala dikenal oleh masyarakat memiliki berbagai manfaat baik buah, biji maupun fuli (salut biji). Buah pala sendiri dapat difungsikan dalam bidang kedokteran untuk mengobati berbagai penyakit diantaranya efektif sebagai antibakterial (Nawangsih et al., 2021). Kandungan senyawa esensial pala mempunyai efek antioksidan kuat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Kamelia & Silalahi, 2018). Studi WHO melaporkan bahwa pala (*Myristica fragrans* Houtt) bila dibandingkan tanaman obat lainnya memiliki kemampuan antibakteri yang kuat melebihi kemampuan antibiotik (Arrizqiyani et al., 2017).

Berdasarkan uji fitokimia, ditemukan bahwa tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt) memiliki senyawa aktif sebagai antibakteri dengan mengacaukan unsur penyusun dinding sel bakteri yang mengakibatkan perubahan struktur sehingga mengakibatkan sel menjadi rusak (Siegers et al., 2022). Menurut Simamora et al., (2018), senyawa esensial buah pala difungsikan juga dalam penanganan sistitis dan uretritis, halitosis, dispepsia, flatulen, impotensi, insomnia, maupun berbagai masalah kulit.

Ekawati et al., (2018), mengungkapkan bahwa bakteri penyebab infeksi jaringan kulit dan nosokomial diantaranya dari golongan bakteri gram negatif adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan golongan gram positif salah satunya *Staphylococcus aureus*. Kedua spesies ini mengakibatkan berbagai bentuk peradangan dengan kemampuannya untuk menembus dan bersarang dalam tubuh. Sebagian kasus peradangan, sangat membutuhkan antibiotik, namun penggunaan antibiotik berlebihan dapat mengakibatkan bakteri resisten karena adanya perubahan genetik. Oleh karena itu, pengembangan obat tradisional dengan memanfaatkan bahan alami perlu ditingkatkan, mengingat bahan yang digunakan mudah didapat, lebih murah, serta rendah efek samping (Nazzaro et al., 2013) .

Senyawa esensial pada buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) dilaporkan memiliki manfaat sebagai antibakterial (Arief & Velly, 2018; Nurhasanah, 2014). Hal ini dipertegas pula oleh Mardisiswojo (1985) dalam (Gansareng et al., 2018) yang mengungkapkan bahwa pala memiliki kandungan senyawa flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa fenolik turunan flavonoid juga efektif menghambat perkembangan bakteri, fenol adalah cairan korosif yang merusak membran sel bakteri lewat denaturasi protein. Kandungan lainnya adalah saponin

yang merupakan suatu senyawa anti bakteri yaitu dengan membatasi kemampuan permeabilitas membran. Senyawa lainnya seperti monoterpen hidrokarbon, asam monoterpen dan aromatic eter serta senyawa turunan kalkon juga bersifat antibakteri (Woriwun et al., 2021).

Bertolak dari latar belakang di atas dengan beragamnya efektifitas senyawa ekstrak buah pala dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, maka perlu dikaji tentang senyawa aktif dengan konsentrasi terbaik yang efektif menghambat bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

## METODE PENELITIAN

### Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yaitu eksperimen laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap yang didesain menggunakan 6 perlakuan dan 3 ulangan termasuk Kontrol. Berikut rancangan percobaan yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1 berikut (Marfu et al., 2021):

Tabel 1. Tabel Perlakuan dan Pengulangan

| Perlakuan | Ulangan |     |     |
|-----------|---------|-----|-----|
|           | 1       | 2   | 3   |
| P1 (20%)  | P11     | P12 | P13 |
| P2 (40%)  | P21     | P22 | P23 |
| P3 (60%)  | P31     | P32 | P33 |
| P4 (80%)  | P41     | P42 | P43 |
| K+        | K+1     | K+2 | K+3 |
| K-        | K-1     | K-2 | K-3 |

Keterangan:

K : Kontrol + (Chloramphenicol); K- (Aquadest)

P1 : ekstrak daging buah pala 20%

P2 : ekstrak daging buah pala 40%

P3 : ekstrak daging buah pala 60%

P4 : ekstrak daging buah pala 80%

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli–September 2022. Penelitian ini berlokasi di Laboratorium Kimia Dasar Universitas Pattimura Ambon dan Laboratorium Balai Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Ambon.

## Sasaran Penelitian

Sasaran penelitian meliputi kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daging pala (*M. fragrans* Houtt) dan kemampuan antibakteri pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Methicilin Resisten Staphylococcus aureus* dengan berbagai konsentrasi.

## Alat dan Bahan

Alat penelitian meliputi cawan petri, *bioassay disk (oxid)*, *chloramphenicol disk*, object glass, cover glass, labu erlenmeyer, gelas beker, pengaduk, spatula, timbangan analitik, pH meter, lakmus, ayakan 60 mesh, autoklaf, *evaporator*, oven, kulkas, blender kering, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, jarum ose, kertas saring, wrapping, aluminium-foil, corong, gelas ukur (*pyrex*), mortar, labeling, lemari asam, pinset, talenan, bunsen dan alat ukur.

Bahan penelitian meliputi buah pala yang diperoleh dari kebun masyarakat Desa Hitu Kabupaten Maluku Tengah sedangkan bakteri uji adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 yang resisten metisilin dari Lab BTKL Ambon, *Myristica fragrans* Houtt, Saboraud Dektrosa Brooth, Nutrient agar, Aquades, carbopol 940, CMC-Na, propil paraben, metil paraben, propilen glikol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, alkohol 70%, etanol 96%, etanol 70%, HCl pekat, BaCl<sub>2</sub>, serbuk Mg, FeCl<sub>3</sub> 1%, NaCl 0,9%. Larutan wagner, aquadest, bucharat dan pereaksi mayer merupakan reagen untuk identifikasi senyawa kimia di dalam ekstrak pala (Mujipradhana et al., 2018).

## Prosedur Kerja

### Sterilisasi alat dan Media

Alat maupun media penelitian yang hendak dipakai, disterilisasi terlebih dulu selama 15 menit pada suhu 121 °C menggunakan autoclave, proses ini dilakukan agar alat ataupun media menjadi steril (Mujipradhana et al., 2018).

### Ekstraksi

Daging buah pala (*M. fragran* Houtt) diambil dari pohonnya dengan memilih buah yang sudah tua, lalu ditimbang kemudian dicuci hingga bersih. Daging buah pala yang telah cuci bersih selanjutnya dilakukan pengeringan dengan cara dikeringanginkan. Sampel buah pala kemudian dihaluskan menggunakan blender, kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh. Serbuk daging buah pala (*simplisia*) selanjutnya ditimbang sebanyak 200 gr dan dilarutkan dengan etanol absolut 96% (800 ml) sambil diaduk lalu diamkan selama 5 hari dengan 2 kali filtrasi.

Produk filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan rotavapor (Saharuddin & Kondolele, 2020). Ekstrak pekat diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan menggunakan aquades menjadi ekstrak 20%, 40%, 60% dan 80%.

### Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada ekstrak *freeze drying* dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya (Sirait & Enriyani, 2021). Kandungan senyawa metabolit tersebut diantaranya alkaloid, saponin, triterpenoid, flavonoid, dan tanin. Adapun tahapannya *uji alkaloid*, yaitu teteskan larutan *wagner* sebanyak 3 tetes pada ekstrak sebanyak 0,5 ml, amati jika pada dasar tabung rekasi berubah warna menjadi coklat atau jingga kekuningan maka ekstrak tersebut mengandung alkaloid. Tahapan *uji saponin*, yaitu tambahkan air panas 2 ml pada ekstrak sebanyak 0,5 ml dikocok dengan cepat, apabila terdapat gelembung seperti busa yang dapat ditahan lebih dari 10 detik maka ekstrak mengandung saponin. Tahapan *uji triterpenoid* yaitu tambahkan larutan bucharadat sebanyak sebanyak 3 tetes pada ekstrak sebanyak 0,5 ml lalu tambahkan juga 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan asam asetat anhidrat sebanyak 0,25, amati jika warna larutan yang terbentuk merah-jingga atau ungu kecoklatan maka itulah triterpenoid, tetapi apabila larutan berwarna hijau kebiruan maka yang terbentuk adalah steroid. Tahapan *uji terpenoid* yaitu tambahkan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes pada 0,5 ml ekstrak lalu dikocok dengan cepat, jika berubah warna menjadi kuning itu mengindikasikan terdapat kandungan *terpenoid* (Bakhriansyah et al., 2021). Tahapan *uji flavonoid* dimulai dengan tambahkan HCL sebanyak 3 tetes dan diberi 0,2 gr serbuk Mg pada ekstrak sebanyak 0,5 ml apabila larutan berubah menjadi merah muda atau merah kecoklatan maka ekstrak tersebut mengandung flavonoid (Zakariyah et al., 2018). Tahapan *uji tanin*, dimulai dengan menambahkan larutan FeCl 1% sebanyak 2 tetes pada ekstrak sebanyak 0,5 ml, apabila larutan menjadi hijau kehitaman, biru, biru tua kehitaman atau ungu maka itulah tanin (Bhernama, 2020).

### Media Dasar dan Media Pembenuhan

Pembuatan media dasar menggunakan 2,8 gr *Nutrient Agar* (NA) kemudian campur dengan 100 ml aquades (28 gr / 1000 ml) pada labu erlenmeyer. Media pembenuhan menggunakan 7 gr Nutrien Agar yang dilarutkan dalam 250 ml aquades pada labu erlenmeyer. Kemudian tiap media dihomogenkan dengan *stirrer* di atas penangas air hingga mendidih. Media yang sudah homogen ini disterilkan dalam

autoklav pada suhu 121°C selama  $\pm$  15 menit, ditunggu hingga suhu mencapai 45° – 50° C. Media dasar dan media pembedihan digunakan sebagai media pengujian untuk lapisan dasar dan lapisan kedua (Muljono et al., 2016).

#### **Biakkan Bakteri Uji**

*P. aeruginosa* dan *Meticilin Resisten Staphylococcus aureus* diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian diinokulasikan ke media agar miring dengan teknik menggores dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Muljono et al., 2016).

#### **Standar Kekeruhan Larutan**

Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 99,5 ml dicampurkan dengan 0.5 ml larutan BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,175% di dalam labu erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh, kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Gansareng et al., 2018).

#### **Larutan Bakteri Uji ( Larutan *Mc. Farland*)**

*P. aeruginosa* dan *Methicilin Resisten Staphylococcus aureus* yang ditanam, diambil dengan ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland* 0,5 (Gansareng et al., 2018; Muljono et al., 2016).

#### **Pembuatan Media Pengujian (*Nutrien Agar*)**

Media *Nutrien Agar* (NA) ditimbang sebanyak 5,04 gr, selanjutnya dilarutkan dengan aquades sebanyak 180 ml (28 gr/ 1000 ml) dalam labu erlenmeyer. Homogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* dan disterilkan dengan *autoclav* pada suhu 121°C  $\pm$  15 menit dan tunggu hingga cukup dingin. Selanjutnya media yang masih cair tersebut dituang ke dalam cawan petri sekitar 30 ml, diratakan dan dibiarkan setengah memadat (Wahyuni & Karim, 2020). Selanjutnya letakan *blank disk* yang sebelumnya telah direndam ke dalam ekstrak yang diuji selama 30 menit dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C.

#### **Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif**

Kontrol positif yang digunakan berupa *kloramfenikol disk* 30 mg, diletakkan di atas media dan diinkubasi pada suhu 37° C (Fredella et al., 2022), sedangkan *kontrol negatif* berupa aquades sebanyak 20 mL. Kontrol negatif digunakan sebagai pembandingan kontrol positif.

### Pengujian aktivitas antibakterial

Aktivitas antibakterial diuji terhadap *S. aureus* ATCC 6538 yang telah diuji resistensinya terhadap methicilin, dan *P. aeruginosa* ATCC 9027 sebagai bakteri uji. Perlakuan antimikroba ini menggunakan paper *blank disk* berdiameter 5 mm artinya memiliki daya serap 50 µL tiap paper *blank disk*. Paper *blank disk* yang telah direndam ekstrak daging buah pala (20%, 40%, 60%, dan 80%) ditempelkan pada media uji. Setelah itu, media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Aviany & Pujiyanto, 2020).

### Pengamatan dan Pengukuran Zona Bening

Setelah 24 jam masa inkubasi dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat berupa zona bening (Fredella et al., 2022). Kepekaan bakteri ditandai dengan adanya zona bening di sekitar *paper disk*. Pengukuran dilakukan menggunakan jangka sorong dengan satuan millimeter (mm). Mekanisme pengukuran diameter horizontal ditambahkan dengan diameter vertikal kemudian dibagi dua. Rumus dalam menghitung zona hambat yang digunakan adalah sebagai berikut (Fiana et al., 2020):

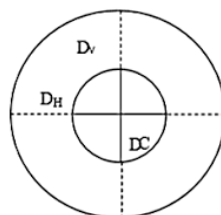
$$(DV - DC) + (DH - DC) / 2$$

Keterangan:

DV: Diameter Vertikal

DH: Diameter Horizontal

DC : Diameter Cakram



Gambar 1. Teknik mengukur Zona Penghambatan (Toy et al., 2015)

Data penghambatan yang telah diukur kemudian diinterpretasi berdasar acuan Davis dan Stoud (1971) (Fredella et al., 2022), dengan uraian sebagai berikut:

Tabel 2. Kriteria Penghambatan (Toy et al., 2015)

| Tingkatan Kriteria | Besar hambatan (mm) |
|--------------------|---------------------|
| Lemah              | < 5 mm              |
| Sedang             | 5 - 10 mm           |
| Kuat               | 10 - 20 mm          |
| Sangat Kuat        | > 20 mm             |

## Analisis Data

Data penelitian berupa nilai penghambatan dianalisis menggunakan uji analisis of varian, dengan prasyarat distribusi data harus normal atau jika  $p > 0,05$  dan jika data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *levene* untuk melihat homogenitas variansi antar kelompok dan dilanjutkan dengan dan uji Tuckey's B<sup>a</sup> untuk melihat perbedaan signifikan tiap kelompok perlakuan. Jika data tidak berdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan uji *kruskal wallis* lalu uji *Mann Whitney* (Bakhriansyah et al., 2021).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji Fitokimia

Skринing Fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak (Ikalinus et al., 2015). Indikator perubahan warna yang terjadi dikaji melalui literatur, misalnya jika terdapat senyawa flavonoid dalam ekstrak tertentu dengan berubahnya warna menjadi kuning kehijauan. Senyawa terpenoid ditandai oleh perubahan warna menjadi merah atau jingga. Tanin ditandai melalui perubahan warna kebiruan, sedangkan senyawa steroid ditandai dengan adanya warna bening setelah dilakukan pengocokan. Senyawa Phenolik ditandai dengan warna coklat kebiruan sedangkan senyawa alkaloid dikenali dengan adanya endapan warna coklat di bagian bawah ekstrak. Adapun hasil uji fitokimia pada ekstrak daging buah pala dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Data hasil Uji Fitokimia Pada Ekstrak Kasar Daging Pala

| Parameter | Warna             | Hasil |
|-----------|-------------------|-------|
| Alkaloid  | Jingga Kekuningan | +     |
| Flavonoid | Kuning Kehijauan  | +     |
| Terpenoid | Merah             | +     |
| Steroid   | Bening            | -     |
| Phenolik  | Coklat Kebiruan   | +     |
| Tanin     | Kebiruan          | +     |

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

Berdasarkan hasil pada Tabel 3, diketahui bahwa ekstrak daging pala (*M. fragrans* Houtt) memiliki beragam kandungan senyawa metabolit sekunder meliputi alkaloid, flavonoid, terpenoid, phenolic serta tannin. (Hoda et al., 2020) dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa ekstrak pala mengandung saponin,



tanin, terpenoid, karbohidrat, steroid dan flavonoid. Senyawa tersebut merupakan komponen aktif yang berperan sebagai antimikroba.

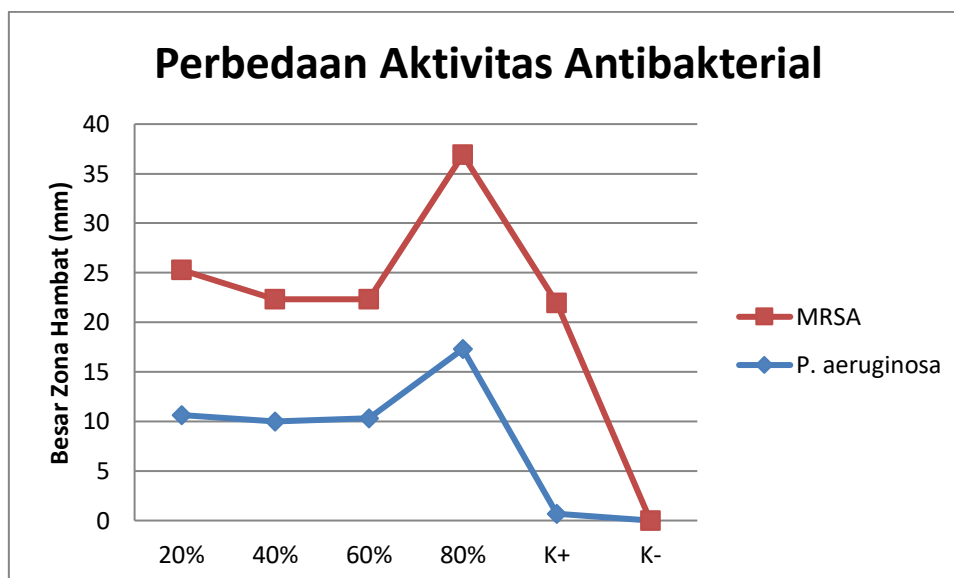
### Uji Aktivitas antimikroba

Aktivitas senyawa metabolit sekunder ekstrak daging buah pala berdasarkan perbedaan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% diuji dalam penghambatan pertumbuhan *P. aeruginosa* dan *Meticilin Resisten Staphilococcus aures* selama 1 x 24 jam dengan menggunakan *chlorampenicol* dan aquadest sebagai pembanding. Adapun data perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri patogen *P. aeruginosa* dan *Methicilin Resisten Staphilococcus aureus* ditunjukkan pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Rerata Zona Hambat Bakteri *P.aeruginosa* dan *MRSA* (mm)

| Jenis Bakteri Patogen       | Rerata Zona Hambat (mm) | Kategori Daya Hambat |
|-----------------------------|-------------------------|----------------------|
| <b><i>P. aeruginosa</i></b> |                         |                      |
| 20%                         | 10.6                    | Sedang               |
| 40%                         | 10                      | Sedang               |
| 60%                         | 10.3                    | Sedang               |
| 80%                         | 17.3                    | Kuat                 |
| K+                          | 0.67                    | lemah                |
| K-                          | 0                       | -                    |
| <b><i>MRS.aureus</i></b>    |                         |                      |
| 20%                         | 14.6                    | Kuat                 |
| 40%                         | 12.3                    | Kuat                 |
| 60%                         | 12                      | kuat                 |
| 80%                         | 19.6                    | Sangat kuat          |
| K+                          | 21.3                    | Sangat kuat          |
| K-                          | 0                       | -                    |

Data pada Tabel 4 menunjukkan dosis terbaik dari ekstrak daging buah pala berada pada konsentrasi 80% baik pada jenis bakteri *P. aeruginosa* maupun *Meticilin Resisten Staphilococcus aures*. Adapun daya hambat untuk bakteri *P. aeruginosa* berada pada kategori kuat, sementara untuk bakteri *Meticilin Resisten Staphilococcus aures* memiliki kategori sangat kuat dan tidak berbeda jauh dengan antibiotik *kloramfenicol*. Untuk memahami penjelasan pada tabel, dapat digambarkan perbedaan zona hambat pada grafik di bawah ini.



Gambar 2. Perbedaan Zona hambat pada bakteri *P. aeruginosa* dan *MRSA*

Berdasarkan grafik di atas, tergambar jelas bahwa ekstrak daging buah pala dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* dan *Methicilin Resisten Staphylococcus aureus*. Perbandingan rerata zona hambat yang lebih tinggi yaitu pada bakteri *Methicilin Resisten Staphylococcus aureus* bila dibandingkan dengan penghambatan pada bakteri *P. aeruginosa*. Hal ini terjadi karena kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daging buah pala lebih efektif untuk bakteri *Methicilin Resisten Staphylococcus aureus* dibandingkan *P. aeruginosa*.

Hasil penelitian ditemukan bahwa penghambatan pertumbuhan *P. aeruginosa* tertinggi diperoleh pada ekstrak daging buah pala dengan konsentrasi 80% yakni sebesar 17.3 mm sedangkan penghambatan pertumbuhan *MRS. aureus* tertinggi diperoleh pada ekstrak daging buah pala dengan konsentrasi 80% yakni sebesar 19.6 mm meskipun tidak melebihi daya hambat dengan penggunaan *kloramfenikol*. Hal ini dapat terjadi karena bakteri *Staphylococcus aureus* ini hanya resisten terhadap jenis antibiotik penicillin tidak pada *kloramfenikol*. Menurut (Faisal & Permana, 2020), antibiotik ini masih bersifat sensitif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Kategori yang ditunjukkan pada kontrol positif ini tergolong kedalam kategori sensitif sebab diameternya >18 mm. Besarnya zona hambat yang terbentuk disebabkan adanya kandungan zat antibakteri berupa *kloramfenikol* 30 mg (Utami et al., 2015).

Berdasar hasil ini juga diketahui bahwa ekstrak daging buah pala dengan konsentrasi 80% efektif dalam menghambat *Meticilin Resisten Staphylococcus*

*aures* dari golongan bakteri gram positif berdasarkan rerata zona hambat. Menurut Singh et al., (2017) menyatakan bahwa ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dari pada bakteri gram negatif. Hal ini diakibatkan karena bakteri gram negatif lebih tahan terhadap senyawa aktif suatu ekstrak karena lebih tipis, dan lapisan membran terluar (*outer membrane*) yang berupa *lipopolisakarida* yang bersifat *hidrofobik* (Hamidah et al., 2019).

**Pengaruh ekstrak terhadap penghambatan *P. aeruginosa* dan MRSA**

Setelah dilakukan pengukuran zona bening atau zona hambat pertumbuhan bakteri, dilanjutkan dengan analisis menggunakan uji *Analisis of Varians (ANOVA)* dan uji lanjut. Adapun hasil perhitungan menggunakan ANOVA disajikan pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Perhitungan ANOVA pemberian ekstrak daging buah pala terhadap aktivitas *P.aeruginosa* dan MRSA

|              |                | ANOVA          |    |             |       |      |
|--------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
|              |                | Sum of Squares | Df | Mean Square | F     | Sig. |
| P.aeruginosa | Between Groups | 711.833        | 5  | 142.367     | 3.757 | .028 |
|              | Within Groups  | 454.667        | 12 | 37.889      |       |      |
|              | Total          | 1166.500       | 17 |             |       |      |
| MRSA         | Between Groups | 789.973        | 5  | 157.995     | 4.249 | .019 |
|              | Within Groups  | 446.187        | 12 | 37.182      |       |      |
|              | Total          | 1236.160       | 17 |             |       |      |

Sumber: Data Penelitian 2022 (Output SPSS v.23)

Berdasarkan Tabel 5, menunjukkan bahwa nilai signifikansi *P. aeruginosa* dan *Meticilin Resisten Staphilococcus aures* masing-masing diperoleh 0.028 dan 0.019, atau nilai Sig. < 0.05 yang berarti bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daging buah pala terhadap aktivitas *P. aeruginosa* dan *Meticilin Resisten Staphilococcus aures*, atau  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima. Oleh karena hasil uji ANOVA menunjukkan nilai Sig. < 0.05, maka dilanjutkan dengan uji tukey's B<sup>a</sup>. Adapun hasil perbedaan dari setiap perlakuan disajikan pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Uji Tukey's B<sup>a</sup>

| Jenis                                 | Perlakuan    | N | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------------------------------------|--------------|---|-------------------------|--------|
|                                       |              |   | 1                       | 2      |
| <i>P.aeruginosa</i>                   |              |   |                         |        |
| Tukey Ba                              | Konsentrasi- | 3 | .000                    |        |
|                                       | Konsentrasi+ | 3 | 6.667                   | 6.667  |
|                                       | 60%          | 3 | 10.333                  | 10.333 |
|                                       | 40%          | 3 |                         | 16.000 |
|                                       | 20%          | 3 |                         | 16.667 |
|                                       | 80%          | 3 |                         | 17.333 |
| <i>Methycilin Resistensi S.aureus</i> |              |   |                         |        |
| Tukey Ba                              | Konsentrasi- | 3 | .000                    |        |
|                                       | 60%          | 3 | 8.100                   | 8.100  |
|                                       | 40%          | 3 | 8.433                   | 8.433  |
|                                       | 80%          | 3 | 13.667                  | 13.667 |
|                                       | 20%          | 3 | 14.667                  | 14.667 |
|                                       | Konsentrasi+ | 3 |                         | 21.333 |

Berdasarkan tabel 6, diketahui bahwa setiap perlakuan memberikan hasil yang berbeda terhadap daya penghambatan pertumbuhan *P. aeruginosa*, dimana perlakuan 20%, 40%, 60%, K+, dan K- tidak berbeda nyata, tetapi berbeda nyata untuk perlakuan 80%. Sedangkan untuk *Meticilin Resisten Staphilococcus aures* perlakuan 20%, 80% dan K+ berbeda nyata sementara konsentrasi 40%, 60% dan K- menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Septiani et al., (2017) berpendapat bahwa konsentrasi ekstrak dan lama waktu inkubasi berpengaruh terhadap efektivitas antibakteri.

Efektivitas ekstrak daging buah pala dengan konsentrasi 80% ini lebih besar karena adanya tingginya kandungan metabolit sekunder di dalamnya. Hasil ini membuktikan bahwa tingginya konsentrasi ekstrak maka semakin besar zat aktif yang terkandung di dalamnya, oleh sebab itu diameter zona hambat yang seimbang dengan besarnya konsentrasi yang digunakan. Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan adanya kandungan zat alkaloida pada ekstrak buah pala, sebagai antibakteri. Menurut Siegers et al., (2022), alkaloid mempunyai kemampuan antibakterial dengan cara mengganggu komponen penyusun dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan peptidoglikan menyatu dan menyebabkan sel bakteri mati (Kaawoan et al., 2016). Menurut (Anastasia et al., 2022) bakteri gram positif umumnya bersifat polar sehingga senyawa saponin dan zat alkaloid yang juga bersifat polar, artinya mudah menembus dinding sel bakteri.

Selain alkaloid, kandungan lainnya adalah senyawa fenol yang terdiri dari flavonoid dan tannin. Menurut Robinson (1995) dalam Gansareng et al., (2018), flavonoid bersifat antibakteri dengan menghambat aktivitas enzim yang akhirnya mengganggu proses metabolisme bakteri dengan mengikat protein bakteri. Sifat lipofilik flavonoid dapat merusak membran sel bakteri karena membran sel mengandung lipid sehingga memungkinkan senyawa tersebut melewati membran. Flavonoid merupakan turunan dari senyawa fenol sedangkan senyawa fenol mempunyai efektif sebagai antibakterial (Isromarina et al., 2020).

Menurut Rezaldi et al., (2022), Flavonoid bekerja secara seluler melalui penghambatan sintesis DNA sehingga bakteri patogen tidak berpotensi kembali dalam melakukan replikasi. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang berpotensi dalam memberikan sinyal dengan plasmid (DNA sirkuler pada bakteri) yang terdapat pada nukleus. Adanya perbedaan kepolaran antara lipid sebagai penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid merupakan salah satu penyebab kerusakan struktur lipid DNA pada bakteri sehingga sel bakteri menjadi terdegradasi (Rezaldi et al., 2022).

Senyawa steroid atau terpenoid yang terdapat dalam ekstrak buah pala juga dapat menghambat aktivitas bakteri dengan menghambat sintesa protein karena terakumulasi sehingga terjadi perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri. Senyawa terpenoid mudah larut dalam lipid, sifat tersebut mengakibatkan senyawa ini mudah menembus dinding sel bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Selain itu, kemampuan senyawa steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membrane lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom sehingga integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan kerusakan sel (Wahyuni & Karim, 2020).

## KESIMPULAN

Ekstrak daging buah pala (*M. fragrans* Houtt) dengan konsentrasi 80% merupakan konsentrasi terbaik dan memiliki efek antibakterial sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen jenis *P. aeruginosa* dan *Meticilin Resisten Staphilococcus aures* dengan nilai signifikansi  $< 0,05$  dan berbeda nyata pada setiap kelompok perlakuan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anastasia, D., Nasution, M. Z., & Yulianti, R. (2022). Pertumbuhan Streptococcus Viridans Antibacterial Activity Of Nutmeg Extract In Inhibiting Streptococcus Viridans Growth. *4(1)*, 11–14. <https://jurnal.poltekkespalembang.ac.id/index.php/jkgm/article/download/1166/682/>
- Arief, D. Z., & Velly, H. (2018). Identification And Inhibition Of Bioactive Compounds From Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt ) And The Application As Antibacterial Agent. *Pasundan Food Technology Journal*, *4(3)*, 191. <https://doi.org/10.23969/pftj.v4i3.647>
- Arrizqiyani, T., Sonjaya, N., & Asty, A. (2017). Optimalisasi potensi tanaman pala sebagai antibakteri Escherichia coli menggunakan metode ekstraksi. *Prosiding Seminar Nasional*, *September*, 375–382. <http://jurnal.utu.ac.id/jtpp/article/view/3702>
- Aviany, H. B., & Pujiyanto, S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Berkala Bioteknologi*, *3(2)*, 24–31. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/bb/article/view/9657>
- Bakhriansyah, M., Amalia, D., & Biworo, A. (2021). Perbandingan Potensi Antibakteri Infus Akar Kuning (*Fibraurea tinctoria* Lour.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Streptococcus pyogenes* In Vitro. *Journal.Unhas.Ac.Id*, *25(3)*, 88–93. <https://doi.org/10.20956/mff.v25i3.14237>
- Bhernama, B. G. (2020). Skrining fbhernama, B. G. (2020). Skrining fitokimia ekstrak etanol Rumput Laut (*Gracilaria* sp.) Asal Desa Neusu Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Amina*, *2(1)*, 1–5. fitokimia ekstrak etanol Rumput Laut (*Gracilaria* sp.) Asal desa Neusu Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Amina*, *2(1)*, 1–5. <https://journal.ar-raniry.ac.id/index.php/amina/article/view/418/546>
- Ekawati, E. R., Husnul Y., S. N., & Herawati, D. (2018). Identifikasi Kuman Pada Pus Dari Luka Infeksi Kulit. *Jurnal SainHealth*, *2(1)*, 31. <https://doi.org/10.51804/jsh.v2i1.174.31-35>
- Faisal, Z. S. S., & Permana, D. (2020). Sensitivitas Antibiotik Paten dan Generik Terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Konjungtivitis. *Yarsi Journal of Pharmacology*, *1(2)*, 69–77. <https://doi.org/10.33476/yjp.v1i2.2205>
- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W., & Purwanti, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 10–20. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v0i0.10108>
- Fredella, D. M., Rahman, A. O., & Miftahurrahmah. (2022). Perbandingan Daya Hambat Minyak Atsiri Green Tea dan Tea Tree terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Joms*, *2(1)*, 68–75. <https://online-journal.unja.ac.id/joms/article/view/18094>
- Gansareng, A., Lolo, W. A., & Pelealu, N. C. H. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmacon*, *7(3)*, 52–57. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/view/20239>
- Hamidah, N. M., Rianingsih, L., & Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurna Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, *1(2)*, 11–20. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jitpi/article/view/6742/3551>
- Hoda, S., Vermani, M., Joshi, R. K., Shankar, J., & Vijayaraghavan, P. (2020). Anti-

- melanogenic activity of *Myristica fragrans* extract against *Aspergillus fumigatus* using phenotypic based screening. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 67. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-2859-z>
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 77. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/view/15445>
- Isromarina, R., Intan, N. R. P., & Sari, E. R. (2020). Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt). *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 1, 33–36. <https://ejournal.stifibp.ac.id/index.php/jibf/article/view/59>
- Kaawoan, P. T., Abidjulu, J., & Siagian, K. V. (2016). Uji daya hambat ekstrak buah pala (*myristica fragrans* Houtt) terhadap bakteri penyebab periodontitis porphyromonas gingivalis secara in vitro. *E-GIGI*, 4(2), 111–114. <https://doi.org/10.35790/eg.4.2.2016.13504>
- Kamelia, L. P. L., & Silalahi, P. Y. (2018). Buah Pala Sebagai Salah Satu Fitofarmaka Yang Menjanjikan Di Masa Depan. 11(April), 205–211. <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/moluccamedica/article/view/868>
- Marfu, N., Studi Farmasi, P., Ilmu Kesehatan Universitas Darussalam Gontor Kampus Putri Mantingan, F., & Raya Solo–Surabaya, J. (2021). PHARMASIPHA: Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy Uji Potensi Antibakteri *Staphylococcus aureus* Dari Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Antibacterial Potential Test Of *Staphylococcus aureus* From Ethanol Extract Of Piper betle L LEAVES. 5(2), 1–10. <https://ejournal.unida.gontor.ac.id/index.php/pharmasipha/issue/archive>
- Mujipradhana, V. N., Wewengkang, D. S., & Suryanto, E. (2018). Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Herdmania Momus Pada Mikroba Patogen Manusia. *Pharmacon*, 7(3), 338–347. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/download/20601/20212>
- Muljono, P., . F., & Manampiring, A. E. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mayana jantan (*Coleus atropurpureus* Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus* Sp. dan *Pseudomonas* Sp. *Jurnal E-Biomedik*, 4(1), 164–172. <https://doi.org/10.35790/ebm.4.1.2016.10860>
- Nawangsih, E. N., Baladika, D. T., & Dewi, A. K. P. (2021). Daya Hambat Ekstrak Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap *Salmonella typhi* Secara In Vivo. 1(5). <https://bajangjournal.com/index.php/JIRK/article/view/478>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
- Nurhasanah, N. (2014). Antimicrobial Activity Of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) Fruit Methanol Extract Againts Growth *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Jurnal Bioedukasi*, 3(1), 2301–4678. <http://ejournal.unkhair.ac.id/index.php/bioedu/article/view/61>
- Rezaldi, F., Junaedi, C., Ningtias, R. Y., Pertiwi, F. D., Sasmita, H., Somantri, U. W., & Fathurrohman, M. F. (2022). Antibakteri *Staphylococcus aureus* dari Sediaan Sabun Mandi Probiotik Kombucha Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L) Sebagai Produk Bioteknologi. *Jurnal Biotek*, 10(1), 36–51. <https://doi.org/10.24252/jb.v10i1.27027>
- Saharuddin, M., & Kondolele, C. A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Butanol Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum* Linn) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Journal.Yamasi.Ac.Id*, 4(2), 98–103. <http://>

- <http://jurnal.yamasi.ac.id/index.php/Jurkes/issue/view/14/13>
- Septiani, S., Dewi, E. N., & Wijayanti, I. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Antibacterial Activities of Seagrass Extracts (*Cymodocea rotundata*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). *SAINTEK PERIKANAN : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6>
- Siegers, B. R. J., Astuty, E., & Taihuttu, Y. M. J. (2022). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daging Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pattimura Medical Review*, 4(1), 1–8. <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/pameri/index>
- Simamora, A., Santoso, A. W., & Timotius, K. H. (2018). Bioactivities of Methanol and Ethyl Acetate Mace Extracts of *Myristica fragrans* Houtt. *Pharmacognosy Communications*, 8(3), 103–107. <https://doi.org/10.5530/pc.2018.3.22>
- Singh, A., Bais, R. T., & Singh, V. (2017). Antimicrobial Susceptibility of *Myristica fragrans* Extract against Oral Pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1), 339–343. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.601.041>
- Sirait, S. M., & Enriyani, R. (2021). Skrining Fitokimia dan Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Kualitas Ekstrak Etanol Daging Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt.). *Warta Akab*, 45(2), 1–5. <https://doi.org/10.55075/wa.v45i2.42>
- Toy, T. S. S., Lampus, B. S., & Hutagalung, B. S. P. (2015). Uji Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria* Sp Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *E-GIGI*, 3(1). <https://doi.org/10.35790/eg.3.1.2015.6600>
- Utami, ayu bintang, Sudarmanto, I. G., & Merta, I. W. (2015). Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Perasan Daun Pare Secara In Vitro. *Universitas Muhammadiyah Surakarta*, 1, 1–67. <https://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id/index.php/M/article/view/138>
- Wahyuni, & Karim, S. F. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kacapiring (*Gardenia jasminoides* Ellis) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 399–404. <https://doi.org/10.22216/jsi.v4>
- Woriwun, R., Kakisina, L. O., & Timisela, N. R. (2021). Kelayakan Usahatani dan Strategi Pengembangan Pala Banda di Pulau Damer. *Jurnal Sosial Ekonomi Pertanian*, 17(3), 23–36. <https://doi.org/10.20956/jsep.v17i3.18215>
- Zakariyah, M., Cepeda, G. N., & Hutasoit, H. (2018). Sifat Fisik, Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Minyak Essensial Kulit Batang Akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Agritechnology*, 1(2), 56. <https://doi.org/10.51310/agritechnology.v1i2.18>