

KARYA TULIS ILMIAH

**ANALISIS MINYAK ATSIRI BIJI PALA DENGAN GC-MS SERTA UJI
AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922
DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh

Prietta Khania Kusuma Putri

27151355C

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI D-III ANAFARMA
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**ANALISIS MINYAK ATSIRI BIJI PALA DENGAN GC-MS SERTA UJI
AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922
DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

KARYA TULIS ILMIAH

*Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Mencapai
Derajat Ahli Madya Analisis Farmasi dan Makanan
Program Studi D-III Anafarma pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*



Oleh

Prietta Khania Kusuma Putri

27151355C

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI D-III ANAFARMA
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH

berjudul

**ANALISIS MINYAK ATSIRI BIJI PALA DENGAN GC-MS SERTA UJI
AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922
DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

oleh :
Prietta Khania Kusuma Putri
27151355C

Dipertahankan di hadapan panitia Penguji Karya Tulis Ilmiah
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 9 Juli 2018

Pembimbing,



Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Prof. Dr. R.A Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si.
2. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
3. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.

1. 

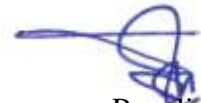
2. 

3. 

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini adalah hasil karya saya sendiri dan tidak pernah terdapat karya yang diajukan untuk memperoleh gelar Ahli Madya di semua perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, Juli 2018



Penulis

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Analisis Minyak Atsiri Biji Pala dengan GC-MS serta Uji Aktivitas terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”, tepat waktu dan tanpa hambatan yang berarti. Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai syarat menyelesaikan program pendidikan D-III Analisis Farmasi dan Makanan di Universitas Setia Budi Surakarta.

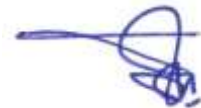
Dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini penulis mendapatkan dukungan arahan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan rasa syukur kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya serta memberikan kelancaran dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Yayasan Pendidikan Universitas Setia Budi yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk menempuh program studi D-III Analisis Farmasi dan Makanan.
3. Dr. Ir. Djoni Taringan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
5. Ibu Mamik Ponco Rahayu M,Si., Apt. selaku Kaprodi D-III Analisis Farmasi dan Makanan.
6. Bapak Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing, yang telah memberikan dukungan dan nasehatnya kepada penulis.

7. Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji serta mengoreksi Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Perpustakaan dan Laboratorium Universitas Setia Budi yang menjadi tempat penyelesaian Karya Tulis ini.
9. Segenap staf dan karyawan Universitas Setia Budi Surakarta dan semua pihak yang telah membantu demi terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
10. Keluarga yang telah memberikan dukungan secara materiil maupun spiritual.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Harapan penulis bahwa karya tulis ini dapat bermanfaat serta menambah pengetahuan baik bagi penulis dan pembaca pada umumnya.

Surakarta, Juli 2018



Penulis

PERSEMBAHAN

“Everyone has their own story.

So, don't judge a situation you've never been in.”

-Anonim-

Rasa syukur saya haturkan pada Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan kemudahan hingga terselesainya karya Tulis ini.

Karya tulis ini saya persembahkan kepada :

♥ Bapak Toto, ibu Tanti, dan dek Oko yang tanpa lelah memberikan motivasi, kasih sayang dan semangat setiap harinya.

♥ Bapak Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing, yang selalu mengingatkan dan memberi saran, terimakasih atas bantuan dan kesabarannya sehingga karya tulis ini dapat terselesaikan.

♥ Sahabat-sahabat saya *Staphylocoli* (Ida, Hally, Devi, Rina) terimakasih atas dukungan, motivasi, kebersamaan, dan keseruannya.

♥ Keluarga seperjuangan di D-III Anafarma angkatan 2015 (Wulan, Erwin, Dede, Kiky, Desak, Anis, Ikhfa, Rensi, Dyah, Winda, Tika, Aqsyia, dan Yoga) terimakasih untuk 3 tahun ini kawan, *see you on top guys!*

♥ Wima's squad (Mbak Chaca, Dwika, Mbak Jhen, Kadek, Helmina, Hana) *thanks for everything guys. Without you i'm nothing in wima.*

Semua pihak yang telah membantu saya, saya ucapkan terimakasih.

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN KARYA TULIS.....	ii
PERNYATAAN.....	ii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Penelitian	1
B. Rumusan Masalah Penelitian	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4

A. Tinjauan Pustaka	4
1. Tanaman pala (<i>Myristica fragrans</i> Hout).....	4
2. Minyak atsiri biji pala.....	5
3. Isolasi minyak biji pala.....	9
4. Analisis kromatografi gas (<i>Gas Chromatography / GC</i>)	10
5. Analisis spektrometer massa (<i>Mass Spectrum / MS</i>).....	14
6. Bakteri	17
7. Antibakteri.....	19
8. Uji aktivitas antibakteri	20
B. Landasan Teori.....	21
C. Hipotesis.....	22
BAB III METODE PENELITIAN.....	23
A. Populasi dan Sampel	23
1. Populasi.....	23
2. Sampel	23
B. Variabel Penelitian.....	23
1. Identifikasi variabel utama.....	23
2. Klasifikasi variabel utama	23
3. Definisi operasional variabel utama	24
C. Alat dan Bahan.....	24
1. Alat.....	24
2. Bahan	25
D. Jalannya Penelitian.....	25
1. Pengambilan sampel.....	25
2. Identifikasi tanaman pala.....	25
3. Preparasi sampel.....	25
4. Isolasi minyak atsiri.....	26
5. Identifikasi minyak atsiri.....	26
6. Pengujian aktivitas antibakteri	26
E. Analisis Hasil	28

F. Skema Penelitian.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. Preparasi Sampel.....	30
B. Hasil isolasi minyak atsiri	31
C. Hasil GC-MS dan fragmentasi minyak atsiri biji pala	33
D. Hasil identifikasi bakteri.	40
E. Hasil Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Biji Pala	42
4.1 Uji dilusi	42
4.2 Uji Difusi	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
A. KESIMPULAN	48
B. SARAN	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Gambar 1 Biji buah pala kering	4
2. Gambar 2 Rangkaian alat Kromatografi Gas	11
3. Gambar 3 Rangkaian alat spektrometer massa	15
4. Gambar 4 Skema penelitian	29
5. Gambar 5 Kromatogram hasil GC minyak atsiri biji pala	33
6. Gambar 6 Spektrum massa senyawa waktu retensi 6,316 menit	34
7. Gambar 7 Pola Fragmentasi gamma-terpinene	35
8. Gambar 8 Spektrum massa senyawa dengan waktu retensi 8,185 menit.....	35
9. Gambar 9 Pola fragmentasi senyawa 3-cyclohexene-1-ol	36
10. Gambar 10 Spektrum massa senyawa pada waktu retensi 9,457 menit.....	36
11. Gambar 11 Pola Fragmentasi senyawa Safrol	37
12. Gambar 12 Spektrum masa senyawa pada waktu retensi 11,415 menit	37
13. Gambar 13 Pola Fragmentasi Miristisin (Ansory, 2014)	38
14. Gambar 14 Spektrum massa senyawa pada waktu retensi 14,935 menit.....	38
15. Gambar 15 Pola fragmentasi metil miristat	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Tabel 1 Respon hambat antibakteri	20
2. Tabel 2 Berat bagian buah pala	30
3. Tabel 3 Hasil randemen minyak atsiri biji pala	32
4. Tabel 4 hasil perbandingan minyak biji dan minyak fuli	32
5. Tabel 5 Hasil perbandingan minyak atsiri dengan SNI.	33
6. Tabel 6 Hasil Uji biokimia <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	40
7. Tabel 7 Hasil uji biokimia bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923....	41
8. Tabel 8 Hasil KHM minyak atsiri biji pala terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	42
9. Tabel 9 Hasil KBM minyak atsiri biji pala terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	43
10. Tabel 10 Hasil KHM minyak atsiri biji pala terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	43
11. Tabel 11 Hasil KBM minyak atsiri biji pala terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	44
12. Tabel 12 Hasil uji difusi minyak atsiri biji pala terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	45
13. Tabel 13 Hasil uji difui minyak atsiri biji pala terhadap <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC 25923.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Lampiran 1 Kondisi Alat CG-MS.....	53
2. Lampiran 2 Hasil Determinasi Tanaman Pala	55
3. Lampiran 3 Perhitungan.....	56
4. Lampiran 4 Gambar alat GC-MS yang digunakan	57
5. Lampiran 5 Gambar hasil kromatogram GC.....	58
6. Lampiran 6 Fragmentasi MS dari puncak dominan KG.....	59
7. Lampiran 7 Hasil uji biokimia bakteri	62
8. Lampiran 8 Hasil uji Dilusi dan Difusi.....	62

INTISARI

PUTRI, P. K. K., 2018 ANALISIS MINYAK ATSIRI BIJI PALA DENGAN GC-MS SERTA UJI AKTIVITAS TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pala merupakan tanaman asli Indonesia. Bagian buah pala meliputi daging buah, kulit biji dan biji pala. Secara komersial biji pala merupakan bagian terpenting dari buah pala dan dapat dibuat menjadi berbagai produk antara lain minyak atsiri dan oleoresin. Kadar minyak atsiri pada biji pala yang banyak diperlukan sebagai obat berkadar minyak atsiri yang tidak kurang dari 5% volume berat. Penelitian tentang minyak atsiri saat ini banyak diarahkan untuk memanfaatkannya sebagai antimikroba penyakit yang disebabkan oleh bakteri atau jamur.

Isolasi minyak biji pala dilakukan dengan metode distilasi air dan didapatkan rendemen sebanyak 0,30 %. Minyak atsiri biji pala dianalisis dengan GC-MS dan diuji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Analisis GC-MS bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia.

Hasil GC-MS diambil 5 senyawa yang mempunyai peak paling tinggi atau yang dominan. Senyawa tersebut yaitu γ -terpinene, 3-cyclohexene-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl), safrol, Miristisin, metil ester. Minyak atsiri biji pala diujikan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi dan dilusi. Hasil uji dengan metode dilusi tidak dapat ditentukan KHM dan KBM dikarenakan pelarut yang kurang cocok. Hasil uji difusi termasuk dalam kategori lemah untuk bakteri *E. coli* dan termasuk kategori kuat untuk bakteri *S. aureus*.

Kata kunci: antibakteri, biji pala, minyak atsiri, GC-MS, senyawa, *E. coli*, *S. aureus*.

ABSTRACT

PUTRI, P. K. K., 2018. NUTMEG ESSENTIAL OIL GC-MS ANALYSIS AND ACTIVITY TEST AGAINST BACTERIA *Escherichia coli* ATCC 25922 AND *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Nutmeg is a native Indonesian plant. The fruit consist of nut, nutshell, and flesh of fruit. The most important part in commercial use of the nutmeg is the nut itself. The nut can be proceed to be many products. Some of them are essential oil and oleoresin. Essential oil content of nutmeg is less than 5% of the weight. Some recent research on nutmeg essential oil has been driven to the using of it in treating disease caused by bacteria and fungus.

Extraction of the oil done by water distillation method which resulting oil in 0.30% yield. The essential oil then analyzed with GC-MS. The anti-bacteria tested against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. GC-MS analysis was done to find out the contain of chemical substances in the nutmeg essential oil.

Five dominant substances with highest peak then taken into a note. They are: γ -terpinene, 3-cyclohexene-1-ol,4-metthyl-1-(1-methylethyl), safrol, Miristisin, metil ester. The essential oil tested against bacteria *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* using diffusion and delusion method. Essential oil tested with dilution method did not result any KHM and KBM caused by insufficient solvent. The diffusion test resulting low impact on *E. coli* and high impact in *S. aureus* bacteria.

Keywords : anti-bacteria, nutmeg, essential oil, GC-MS, substance, *E. coli*, *S. aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Pala merupakan tanaman asli Indonesia. Pohon pala dapat tumbuh di daerah tropis pada ketinggian di atas 700 m dari permukaan laut, pada temperatur lembab dan panas, dengan curah hujan 2.000-3.500 mm tanpa mengalami periode musim kering secara nyata. Daerah penghasil utama pala di Indonesia adalah Kepulauan Maluku, Sulawesi Utara, Sumatra Barat, Nanggroe Aceh Darusalam, Jawa Barat dan Papua. Pala dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomis dan multiguna karena setiap bagian tanaman pala, yaitu biji, buah, dan kulit dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri (Nurdjannah, 2007).

Secara komersial biji pala dan fuli (*mace*) merupakan bagian terpenting dari buah pala dan dapat dibuat menjadi berbagai produk antara lain minyak atsiri dan oleoresin. Kadar minyak atsiri pada biji pala yang banyak diperlukan sebagai obat berkadar minyak atsiri yang tidak kurang dari 5% volume berat, sedangkan kadar minyak atsiri serbuk tidak kurang dari 4% (Rismunandar, 1990). Agusta (2000) mengisolasi minyak biji pala segar memiliki 2,16% minyak atsiri dengan komposisi senyawa antara lain α -Pinea, Kamfena, β -Pinea, Limonena, Safrol, Eugenol, Miristisin dan lain-lain. Minyak atsiri biji pala dapat diisolasi melalui proses distilasi. GC-MS merupakan instrumen yang dapat digunakan untuk analisis senyawa yang bersifat volatil dan menganalisis senyawa berdasarkan spektrum massa. Mengacu pada Agusta (2000) penelitian tentang minyak atsiri

saat ini banyak diarahkan untuk memanfaatkannya sebagai antimikroba penyakit yang disebabkan oleh bakteri atau jamur.

Penyakit yang dapat disebabkan oleh bakteri atau jamur salah satunya adalah penyakit infeksi. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi piogenik pada manusia dan paling sering terjadi. *Staphylococcus aureus* juga menyebabkan kasus sepsis pada luka bedah, keracunan makanan (Volk dan Wheeler, 1990). *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi saluran kencing yang merupakan infeksi terbanyak, gastroenteritis akut, meningitis pada bayi, disentri (Fardiaz, 1993).

Antibiotik sintetis atau bahan kimia biasanya digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati penyakit infeksi. Antibiotik sintetis yang digunakan berlebihan dapat menyebabkan resisten pada suatu mikroorganisme. Resistensi bakteri menyebabkan banyak peneliti melakukan penelitian untuk mendapatkan antibiotik alami yang dapat menghambat ataupun membunuh suatu mikroorganisme tanpa membuat mikroorganisme tersebut resisten (Walengwangko, 2015). Salah satu antibiotik alami berasal dari hasil isolasi senyawa pada tumbuhan pala yaitu minyak atsiri biji pala.

Minyak atsiri dapat diambil melalui proses distilasi. Minyak atsiri biji pala dianalisis menggunakan GC-MS sehingga dapat mengetahui komponen senyawa mayoritas minyak atsiri biji pala dan mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri biji pala pada bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococus aureus* dengan metode dilusi dan difusi, dari penjelasan diatas maka penulis tertarik untuk

membuat karya ilmiah dengan judul Analisis Minyak Atsiri Biji Pala dengan GC-MS serta Uji Aktivitas terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Rumusan Masalah Penelitian

Berdasarkan latar belakang diatas maka penulis menemukan beberapa rumusan masalah yakni :

1. Bagaimana profil kandungan senyawa dalam minyak atsiri biji buah pala?
2. Berapakah diameter zona hambat dari minyak atsiri biji pala terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui :

1. Profil kandungan senyawa dalam minyak atsiri biji pala.
2. Diameter zona hambat dari minyak atisiri biji pala terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi dan edukasi mengenai kandungan senyawa minyak atsiri biji pala beserta manfaat dari metode analisis yang dapat digunakan menganalisis minyak atsiri biji pala, edukasi mengenai bakteri dan mekanisme kerja bakteri. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi saran atau rujukan penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman pala (*Myristica fragrans* Hout)

Klasifikasi tanaman Pala adalah sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub Kelas : Magnolidae
Ordo : Magnoliales
Famili : Myristicaceae
Genus : *Myristica*
Spesies : *Myristica fragrans* Houtt



Gambar 1 Biji buah pala kering

Pala (*Myristica fragrans* Houtt) adalah rempah-rempah penting yang banyak dibudidayakan di kebun dan tumbuh di pekarangan rumah masyarakat

perdesaan di Indonesia (Hakim, 2015). Tanaman pala berasal dari Pulau Banda dan sekarang sudah menyebar ke daerah-daerah lain Indonesia, bahkan sampai di Grenada, Amerika Tengah dan lain-lain. Tanaman pala jenis *Myristica fragrans* Houtt sampai sekarang masih merupakan jenis yang unggul di Indonesia. Tanaman pala tumbuh baik di daerah pegunungan dengan ketinggian 500-700 m di atas permukaan air laut. Pohon pala (*Myristica fragrans* Houtt) membentuk pohon yang tingginya lebih dari 18 meter dan berdiameter 30 – 45cm. Pala mempunyai buah berbentuk lonjong, berwarna hijau saat muda dan kuning menjelang matang. Buah pala berdaging, pada saat matang, kulit buah terbelah dan akan terlihat biji yang diselimuti fuli berwarna merah (Hakim, 2015).

Biji buah pala merupakan biji tunggal, berkeping dua, dilidungi oleh tempurung, walaupun tidak tebal tapi cukup keras. Biji pala berbentuk bulat telur hingga lonjong, panjangnya berkisar antara 1,5 – 4,5 cm dengan lebar 1 – 2,5 cm, mempunyai tempurung berwarna coklat tua dan licin permukaannya bila sudah cukup tua dan kering (Nurdjannah, 2007). Famili tumbuhan *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Myristicaceae*, *Astereaceae*, *Apocynaceae*, *Umbeliferae*, *Pinaceae*, *Rosaceae*, dan *Labiatae* adalah family tumbuhan yang sangat populer sebagai penghasil minyak atsiri (Agusta, 2000).

2. Minyak atsiri biji pala

Minyak atsiri adalah salah satu kandungan tanaman yang sering disebut minyak terbang (*volatile oils*) karena mudah menguap. Minyak atsiri juga disebut

essential oil karena minyak tersebut memberikan bau pada tanaman. Minyak atsiri merupakan cairan berwarna jernih dan tidak berwarna, tetapi selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Warna minyak pada masa penyimpanan dipengaruhi oleh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin) (Koesmardiyah, 2010).

2.1. Sumber minyak atsiri biji pala

Minyak atsiri merupakan minyak mudah menguap atau minyak terbang merupakan campuran dari senyawa yang berwujud cairan atau padatan yang memiliki komposisi maupun titik didih yang beragam (Sastrohamidjojo, 2004). Minyak atsiri diperoleh dari biji, buah, bunga, daun, ataupun bagian lain dari tumbuhan. Minyak atsiri biji pala merupakan minyak atsiri yang berasal dari biji buah pala. Minyak atsiri biji pala dapat diperoleh melalui penyulingan. Penyulingan dapat didefinisikan sebagai proses pemisahan komponen-komponen suatu campuran yang terdiri atas dua cairan atau lebih berdasarkan perbedaan tekanan uap mereka atau berdasarkan perbedaan titik didih komponen-komponen senyawa tersebut (Guenther, 1987).

2.2. Kandungan minyak biji pala

Hakim (2015) menerangkan bahwa biji Pala mengandung 30-55% minyak dan 45-50% bahan padat meliputi antara lain selulosa. Terdapat dua jenis minyak, pertama adalah minyak esensial, atau sering disebut minyak volatil (*volatile oil*) yang berkisar antara 5-15% dari biji. Kedua adalah minyak tidak berwarna atau

kuning pucat dengan rasa dan bau khas pala (*nutmeg butter*) yang mempunyai proporsi antara 24-40% dari biji.

Biji buah pala mengandung minyak atsiri berisi sampai 10% miristin (yang bersifat membius), sekitar 4% pinen, 80% kamfer, 8% dipente safrol, 0,6% egenol, dan alkohol 6%, minyak lemak sekitar 40% berupa gliserida dari asam miristinat, asam oleat dan asam linoleat, abu 4%, zat putih telur 25% sampai 40%, pati dan gula (Nurdjannah, 2007).

Agusta (2000) menjelaskan apabila minyak atsiri memiliki kandungan hidrokarbon tidak beroksigen dalam jumlah besar dan stearopema dalam porsi kecil, maka kegunaannya lebih diutamakan sebagai pemberi bau yang spesifik atau perancah. Minyak atsiri yang mengandung lebih banyak senyawa dari golongan hidrokarbon, alkohol, keton, fenol, ester dari fenol, oksida, dan ester lebih memungkinkan untuk digunakan sebagai obat. Senyawa tersebut menurut teori diketahui memiliki gugus aktif yang berfungsi melawan suatu jenis penyakit.

Mudlofar (2012) menganalisis biji pala menggunakan GC-MS dengan hasil biji pala Papua (*M argentea* Warb) umur 4 bulan memiliki komponen mayor berupa 2-Thujene (54.13%), safrol (21.44%), *beta*.-phellandrene (10.59%), *beta*.-Myrcene (3.58%), *1R-alpha*.-pinene (1.54%), dan terpene-4-ol (2.13%). Sedangkan biji pala papua umur 8 bulan memiliki komponen mayor berupa 2-Thujene (60.91%), safrol (16.25%), *beta*-phellandrene (11.22%), *beta*-Myrcene (3.99%), *1R-alpha*-pinene (1.83%), dan terpene-4-ol (0.91%).

2.3. Fungsi minyak atsiri biji pala

Pala memberikan rasa hangat pada tubuh. Efek farmakologis pala antaralain sebagai anti kembung, antiinsomnia, peluruh kentut (*carminative*), dan perangsang (stimulan). Sementara buah, biji dan daun pala memiliki efek farmakologis mengobati gangguan pencernaan, sakit perut, kejang lambung, mual, muntah-muntah, diare, muntaber, jantung berdebar-debar, haid tidak lancar, kencing batu, kencing manis (DM), demam, nifas, lemah syahwat, tidak dapat tidur (insomnia), sakit telinga (otitis), sariawan, menambah nafsu makan (*stomachica*), kepala pusing, rematik, sakit pinggang, dan kudis (*scabies*) (Hariana, 2013).

Kandungan kimia ekstrak biji pala dalam bentuk minyak atsiri dan oleoresin telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang pangan sebagai *flavor agent* seperti pada pembuatan minuman berbahan dasar susu, makanan berbahan dasar daging hewan, maupun dalam bidang kesehatan dan kecantikan seperti aroma terapi, balsam herbal, sirup obat batuk, pasta gigi parfum (Hakim, 2015).

Studi farmakologi Hakim (2015) terhadap potensi pala menjelaskan bahwa buah pala berpotensi sebagai antimikrobial, antara lain berperan dalam penghambatan pertumbuhan *Bacillus anthracis*, *B. mycoides*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Shigella* sp. I dan II dan patogenik terhadap bakteri *Staphylococcus*.

3. Isolasi minyak biji pala

Metabolit sekunder pada tanaman salah satunya adalah minyak atsiri. Minyak atsiri dapat diisolasi melalui beberapa metode seperti *enflurage*, penyulingan, penyarian dengan cairan penyari (Koensoemardiyah, 2010). Biji pala terlebih dahulu dipreparasi untuk mendapatkan hasil minyak dengan randemen yang besar.

Preparasi biji pala dilakukan dengan pengeringan. Pengeringan bahan dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti pengeringan dengan cahaya matahari dan dengan dikering-anginkan. Penelitian yang dilakukan Sipahelut, Sophia G. dan Ivone Telussa (2011) menerangkan bahwa proses pengeringan akan mempengaruhi hasil minyak atsiri. Proses pengeringan dengan metode kering-angin destilasi air didapatkan kadar minyak sebesar $0,90 \pm 0,14$, metode kering matahari $1,58 \pm 0,29$, metode cabinet dryer $1,17 \pm 0,03$.

Hidayati, *et al.* (2015) menyuling minyak biji pala dengan pengaruh ukuran bahan dan tekanan penyulingan terhadap kualitas dan randemen minyak mempunyai hasil : kandungan minyak dalam biji pala yang diperoleh dengan menggunakan distilasi air bervariasi antara 0,5 – 1,7%. Rendemen minyak biji pala dan ukuran bahan berturut-turut sebesar 1,2; 1,6 dan 1,3% ketika biji pala dengan ukuran berturut-turut 10, 20 dan 40 mesh yang disuling dengan waktu 4,5 jam.

Distilasi merupakan proses pemisahan komponen yang paling sering digunakan sehari-hari. Distilasi sangat baik untuk memisahkan bahan-bahan alam

yang berupa zat cair atau untuk memurnikan cairan sebagai pengotor. Prinsip utama metode distilasi adalah berdasarkan perbedaan titik didih dari masing-masing senyawa komponen campuran pada tekanan yang tetap. Perbedaan titik didih ini menyebabkan perbedaan volatilitas pada komponen campuran dan merupakan sifat instrinsik dari senyawa penyusun campuran. Perbedaan ini sangat potensial untuk dijadikan sarana pemisahan dengan syarat tekanan dibuat tetap (Wonorahardjo, 2016).

Rachmi, *et al.* (2014) mengisolasi minyak atsiri biji pala dengan cara metode *mikrowave* menghasilkan kadar minyak sebanyak 7,07 % dalam waktu 60 menit, lebih tinggi dibandingkan metode konvensional menghasilkan kadar minyak sebanyak 4,30% selama 4 jam.

Pratama *et al.* (2016) mengisolasi minyak atsiri tumbuhan semburan menggunakan metode distilasi menghasilkan minyak sebanyak 1,4 mL kemudian dihitung berat jenis minyak atsiri tumbuhan semburan sebesar 0,76 g/mL dan rendemen sebesar 0,035%.

4. Analisis kromatografi gas (*Gas Chromatography / GC*)

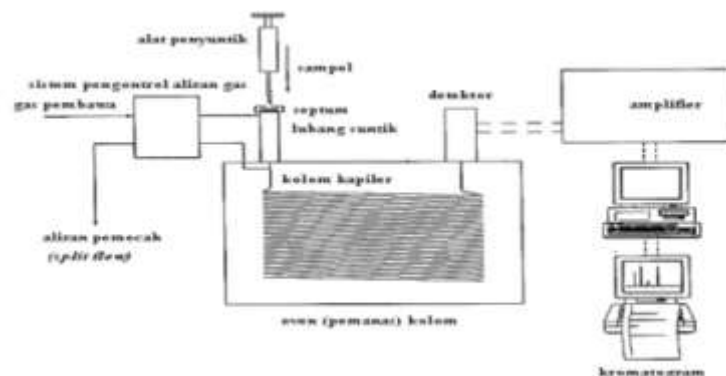
Kromatografi gas adalah suatu instrumen yang digunakan untuk memisahkan senyawa atsiri dengan meneruskan arus gas melalui fase diam. Dasar pemisahan kromatografi gas ialah penyebaran cuplikan kromatografi gas diantara dua fase, kedua fase ini adalah fase diam dan fase gerak. Bila fase diam berupa zat padat, cara tersebut disebut sebagai kromatografi gas padat (KGP), ini didasarkan pada sifat penjerapan kemasam kolom untuk memisahkan cuplikan, terutama

cuplikan gas. Kolom kromatografi gas padat yang lazim dipakai ialah silika gel, ayakan molekul dan karang (McNair, H. M. dan E. J. Bonelli, 1988).

Bila fase diam berupa zat cair, disebut juga kromatografi gas (KGC). Fase cair berupa lapisan tipis pada zat padat yang lembam dan pemisahan berdasarkan pada partisi cuplikan yang masuk kedalam dan keluar dari lapisan zat cair ini. Fase zat cair mempunyai banyak macam yang dapat digunakan sampai suhu 400 °C sehingga, mengakibatkan KGC merupakan bentuk kromatografi gas yang paling serbaguna dan selektif (McNair, H. M. dan E. J. Bonelli, 1988).

Komponen yang akan dipisahkan dibawa oleh gas pembawa melalui kolom. Campuran cuplikan terbagi diantara gas pembawa dan fase diam yang terdapat pada zat padat dengan ukuran partikel tertentu. Pelarut akan menahan komponen secara selektif berdasarkan koefisien distribusinya sehingga terbentuk sejumlah pita berlainan pada gas pembawa. Komponen pita ini meninggalkan kolom bersama aliran gas pembawa dan dicatat sebagai fungsi waktu oleh detektor (McNair, H. M. dan E. J. Bonelli, 1988).

4.1 Rangkaian alat kromatografi gas



Gambar 2 Rangkaian alat Kromatografi Gas (google.com/GC)

Kromatografi gas mempunyai alat penyusun sebagai berikut:

4.1.1 Gas pembawa. Gas pembawa yang paling sering digunakan yaitu helium (He), argon (Ar), nitrogen (N₂), hidrogen (H₂), dan karbon dioksida (CO₂). Keuntungan dari gas-gas pembawa tersebut yaitu gas tersebut tidak reaktif dan dapat dibeli dalam keadaan murni dan kering yang dikemas dalam tangki bertekanan tinggi. Pemilihan gas pembawa tergantung pada dektektor yang digunakan dan harus memenuhi persyaratan yaitu harus inert (tidak bereaksi dengan sampel, pelarut sampel, material dan kolom), murni, dan mudah diperoleh (Agusta, 2000). Gas He lebih disukai untuk detektor konduktivitas termal karena Konduktivitas termalnya yang tinggi (Khopkar, 2014).

4.1.2 Sistem injeksi sampel. Sampel diinjeksikan melalui suatu makro siringe melalui suatu septum karte silikon ke dalam kotak logam yang panas. Kotak logam tersebut dipanaskan dengan pemanas listrik. Sampel yang diinjeksikan sebanyak 0,5-10 μ L (Khopkar,2014).

4.1.3 Kolom. Kolom merupakan unsur yang penting karena keberhasilan pemisahan ditentukan oleh pemilihan kolom. Kolom dapat terbuat dari tembaga, baja tahan karat, aluminium atau gelas. Fase diam dapat dikelompokkan menjadi beberapa macam. Bentuk fisik fase diam yang umumnya digunakan pada kolom adalah fase diam padat dan fase diam cair. Fase diam dibedakan berdasarkan sifat kepolarannya yaitu nonpolar, sedikit polar, semi polar, dan sangat polar (Agusta, 2000). Baja tahan karat digunakan untuk tabung kolom kromatografi apabila

berkerja dalam temperatur tinggi. Diameter kolom bervariasi dari 1/16 sampai 3/16. Panjang kolom umumnya adalah 2 meter (Khopkar, 2014).

4.1.4 Suhu. Kromatografi mempunyai 3 bagian pengaturan suhu yang berbeda yaitu suhu gerbang suntik, suhu kolom, dan suhu detektor. Suhu gerbang suntik harus cukup panas untuk menguapkan cuplikan sedemikian cepat sehingga tidak menghilangkan keefisienan yang disebabkan oleh cara penyuntikan. Suhu kolom harus cukup tinggi sehingga analisis dapat diselesaikan dalam waktu yang layak dan harus cukup rendah sehingga pemisahan yang dikehendaki tercapai. Suhu detektor dan sambungan antara kolom dan detektor harus cukup panas sehingga cuplikan dan fase diam tidak mengembun (Khopkar, 2014).

4.1.5 Detektor. Detektor yang baik mempunyai ciri yaitu: kepekaan yang tinggi, tingkat deraunya rendah, kelinieran tanggapannya lebar, tanggap terhadap semua jenis senyawa, kuat, tidak peka terhadap perubahan aliran dan suhu, serta murah harganya (McNair, H. M. dan E. J. Bonelli, 1988). TCD (*thermal conductivity detector*) merupakan detektor yang paling tepat untuk kolom berpenunjang. FID (*flame ionization detector*) merupakan detektor yang paling cocok untuk kolom terbuka (tanpa penunjang). ECD (*electron capture detector*) merupakan detektor yang paling umum digunakan (Khopkar, 2014).

4.1.6 Pencatat sinyal. Akurasi suatu kromatogram ditentukan oleh pemilihan pencatat sinyalnya, kadang kala sinyal perlu diperkuat. Respon melewati skala penuh haruslah 1 detik. Kepekaan perekam adalah 10 mV dan

perjangkauan dari 1-10 mV. Operasi saluran langsung terdapat dua elektrometer dibangun menjadi satuan sinyal (Khopkar, 2014).

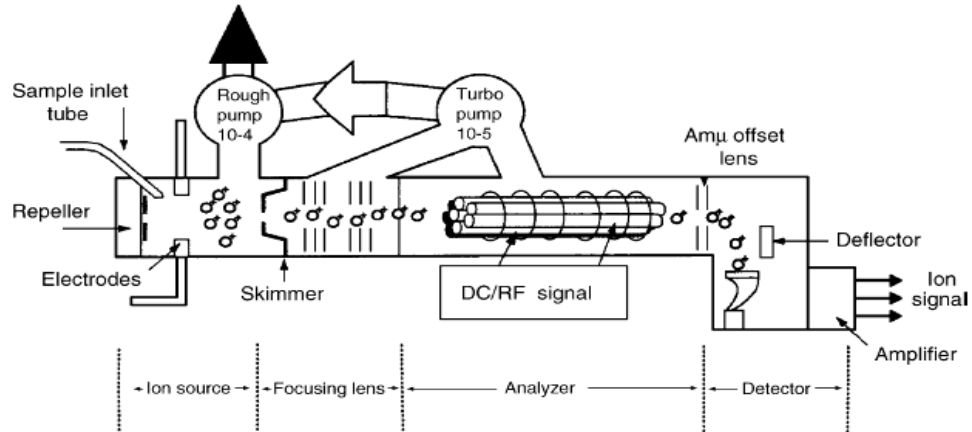
4.2. Fungsi kromatografi gas

Kromatografi gas dapat digunakan untuk menganalisis senyawa hasil pirolisis (sukar menguap), senyawa yang tidak stabil secara termal, serta senyawa yang mudah menguap (Khopkar, 2014). Kromatografi gas memiliki kelebihan menurut Khopkar (2014), diantaranya yaitu untuk meningkatkan efisiensi pemisahan dapat digunakan kolom yang panjang. Gas dan uap mempunyai viskositas yang rendah, demikian juga kesetimbangan partisi antara gas dan cairan berlangsung cepat, sehingga proses analisis relatif cepat dan sensitivitas tinggi.

5. Analisis spektrometer massa (*Mass Spectrum / MS*)

Spektrometer massa adalah suatu instrumen yang dapat menyeleksi molekul-molekul gas bermuatan berdasarkan massa atau beratnya. Spektrum massa diperoleh dengan mengubah senyawa suatu sampel menjadi ion-ion yang bergerak cepat yang dipisahkan berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan (m/e). Proses ionisasi menghasilkan partikel-partikel bermuatan positif, dimana massa terdistribusi adalah spesifik terhadap senyawa induk. Spektrum masa dipakai untuk penentuan struktur molekul dan analisis kuantitatif. Sampel ditembak dengan berkas elektron yang menghasilkan suatu ion molekul atau fragmen ionik. Fragmen-fragmen bermuatan ini dapat dipisahkan menurut massanya (Khopkar, 2014).

5.1. Rangkaian alat spektrometer massa



Gambar 3 Rangkaian alat spektrometer massa (google.com/ms)

Spektrometer massa mempunyai rangkaian alat sebagai berikut:

5.1.1. Sistem penanganan sampel. Sistem penanganan sampel berfungsi mengubah sampel agar mempunyai bentuk gas.

5.1.2. Sumber ion. Analisis spektrofotometri massa dilakukan dengan pengionan. Molekul-molekul diubah menjadi ion dalam bentuk gas. Cara umum menghasilkan ion-ion meliputi penembakan sampel dengan berkas elektron berenergi tinggi yang berasal dari suatu *ion gun* (Khopkar, 2014).

5.1.3. Penganalisis massa. Penganalisis massa tersusun atas alat-alat yang berguna untuk memisahkan ion-ion dengan perbandingan massa terhadap muatan yang berbeda-beda. Penganalisis massa harus dapat membedakan selisih massa yang kecil serta dapat menghasilkan arus ion yang tinggi. Jenis penganalisis massa antara lain adalah penganalisis berfokus tunggal dengan pembelokan magnet, penganalisis berfokus ganda, penganalisis lintasan waktu, penganalisis kuadropol (Khopkar, 2014).

5.1.4. Pengumpul ion. Arus berkas ion yang dapat dideteksi dan diukur berkisar 10^{-15} sampai 10^{-5} ampere, dengan bantuan lempengan fotografi. Elektroda pengumpul harus terlindung dari ion-ion yang tidak diharapkan. Spektrometer menggunakan dua detektor untuk perbandingan isotop. Sistem vakum harus sempurna untuk menjamin kevakuman yang tinggi terhadap instrumen. Pada sistem pemasukan sampel, tekanan diusahakan sekitar 10^{-2} torr sedangkan pada penganalisis, tekanan diatur sampai 10^{-7} torr atau lebih rendah lagi. Pompa *difusi mercury* atau pompa mekanik dapat digunakan (Khopkar, 2014).

5.2. Pola Fragmentasi

Pola fragmentasi berguna untuk mengetahui kejadian-kejadian dimana elektron-elektron bertumbukan dengan sumber ion pada energi dinaikkan. Potensial mula-mula berkisar 8-12 eV dimana ion-ion mulai terbentuk, ion ini dikenal dengan ion molekul atau ion induk, dengan naiknya potensial ikatan-ikatan maka ion induk akan terfragmentasi lebih lanjut. 70 eV merupakan nilai yang cukup untuk memutuskan semua ikatan. Setiap komponen memberikan rangkaian fragmentasi yang spesifik dan disebut pola fragmentasi. Pola fragmentasi merupakan deretan garis. Puncak-puncak yang kelimpahannya kecil disebut puncak isotop. Instrumen dengan resolusi tinggi dapat memberikan informasi mengenai deret massa, misalnya perbedaan antar atom dan molekul dan semua nilai nominal (Khopkar, 2014).

6. Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Bakteri mempunyai ukuran diameter 500-750 nm, panjangnya 1000-6000 nm (Tambayong, 2000). Bakteri mempunyai peran baik dalam kehidupan manusia seperti bakteri *Cyanocobalamin* (vit B12), *Rhizobium*, *Lactobacillus* pada susu namun, bakteri juga dapat merugikan manusia mengakibatkan penyakit maupun infeksi seperti *E. coli* dan *Staphylococcus aureus* (Volk dan Wheeler, 1993).

6.1. Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi *E. coli* adalah sebagai berikut (Volk dan Wheeler, 1993) :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, berbentuk lurus dengan ukuran 1,1-1,5 μ m x 2,0-6,0 μ m, tidak memiliki kapsul spora, bersifat anaerob fakultatif dan mudah tumbuh pada nutrient sederhana. *E.coli* merupakan flora fakultatif utama dalam usus. Pada umumnya, *E. coli* menetap secara normal dilumen usus inang tetapi apabila inang dalam keadaan lemah atau sistem

pelindung (imun) terganggu maka, bakteri normal “nonpatogenik” tersebut dapat menyebabkan infeksi (Nataro dan Kapker, 1998).

6.2. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri ini merupakan bakteri gram positif, mempunyai sel berbentuk bola dengan diameter 0,5-1,5 μm , tersusun berkelompok tidak teratur, tidak memiliki kapsul atau spora dan tidak diketahui adanya stadium istirahat. Dinding sel bakteri ini mengandung peptidoglikan dan asam teikoat yang terikat dengannya. Bakteri ini bersifat fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak pada keadaan aerobik. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri ini adalah 35-40 °C (Pelczar & Chan, 1986). Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi piogedan bahkan septikimia yang fatal (Jawetz *et al.*, 1996).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Volk dan Wheeler, 1993) :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

7. Antibakteri

Antibakteri adalah bahan atau senyawa yang dapat digunakan untuk membsi bakteri terutama bakteri patogen. Senyawa antibakteri harus mempunyai sifat toksisitas selektif, yaitu berbahaya bagi parasit tetapi tidak berbahaya bagi inangnya. Antibakteri mempunyai 2 spektrum yaitu luas dan sempit. Spektrum luas yaitu antibakteri yang efektif digunakan untuk banyak spesies bakteri baik kokus, basil, maupun spiral. Spektrum sempit yaitu anti bakteri yang hanya efektif digunakan pada spesies tertentu saja (Waluyo, 2004).

Menurut Dzen dan Sjoekoer, M (2003) dalam Rahmawati (2016) berdasarkan cara kerjanya terhadap bakteri, antibakteri dapat digolongkan menjadi dua yaitu:

7.1. Baterisidal. Efek ini membunuh sel bakteri tetapi tidak menyebabkan sel lisis atau pecah. Hal ini ditunjukkan dengan ditambahkannya antimikroba pada kultur mikroba yang masih berada pada fase logaritmik, didapatkan bahwa sel total tetap, namun jumlah sel hidup berkurang.

7.2. Bakteriostatik. Efek ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak membunuhnya. Efek ini dapat menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan ditambahkannya antimikroba pada kultur mikroba yang masih berada pada fase logaritmik, didapatkan bahwa jumlah total maupun jumlah sel hidup masih tetap.

8. Uji aktivitas antibakteri

Daya suatu senyawa antibakteri diukur secara *invitro* dapat ditentukan kemampuan aktivitas antibakteri dari senyawa antibakteri tersebut (Jawezt *et al.*, 1996). Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antibakteri pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu difusi dan dilusi.

8.1. Metode difusi

Metode difusi merupakan metode yang paling sering digunakan, lebih dikenal dengan cara Kirby-Bauer. Piringan yang berisi antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengidentifikasi adanya hambatan pertumbuhan antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan dapat dilihat pada tabel berikut:

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 21 mm	Sangat kuat
11- 20 mm	Kuat
6 - 10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

8.2. Metode dilusi

Metode dilusi menggunakan antimikroba dengan kadar menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau media padat. Metode dilusi cair, mengukur kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan

sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antibakteri, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

B. Landasan Teori

Tanaman pala merupakan tanaman yang berasal dari famili *Myristicaceae*. Famili tumbuhan *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Myristicaceae*, *Astereaceae*, *Apocynaceae*, *Umbeliferae*, *Pinaceae*, *Rosaceae*, dan *Labiatae* adalah family tumbuhan yang sangat populer sebagai penghasil minyak atsiri (Agusta, 2000). Buah pala merupakan bagian dari tanaman pala yang paling banyak dimanfaatkan.

Buah pala terdiri atas daging pala (*pericarp*) dan biji pala yang terdiri atas fuli, tempurung dan daging biji. Biji dari buah pala yang belum cukup masak berwarna coklat. Bila dikeringkan, akan mengalami perubahan warna menjadi coklat tua. Biji dari buah pala segar dapat menghasilkan 2,16% minyak atsiri dengan berbagai komponen. Minyak atsiri biji pala mempunyai kandungan kimia yaitu α -Pinena, kamfena, β -pinena, limonene, β -Linalool, 4-metil-1-(1-metiletil)-3-sikloheksan-1-ol, solanon, safrol, miristisin (Agusta, 2000). Kandungan minyak atsiri biji pala diketahui dapat memiliki aktivitas antibiotik.

Minyak atsiri dari biji pala dapat dipisahkan dengan metode destilasi atau penyulingan. Penyulingan dapat didefinisikan sebagai metode pemisahan kedua campuran berdasarkan perbedaan titik didih. Hasil destilasi dari minyak atsiri biji

pala diuji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram dan dilusi. Uji aktivitas antibiotik akan menghasilkan data KHM dan KBM. Komponen minyak atsiri yang dapat membunuh bakteri atau sebagai antibiotik perlu dilakukan analisis. Analisis minyak atsiri dapat menggunakan instrument GC-MS. Data yang dihasilkan dari analisis dengan GC-MS berupa data spektrum yang dapat digunakan untuk identifikasi komponen kimia dari minyak atsiri biji pala.

C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Biji pala mengandung minyak atsiri dengan komponen tertentu dan dapat ditentukan dengan GC-MS.
2. Minyak atsiri biji pala mempunyai diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923..

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pala tidak terlalu matang berwarna kuning kecoklatan.

2. Sampel

Sampel yang digunakan yaitu biji pala dari buah pala yang berasal dari daerah Bregas, Semarang.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah kandungan 4 senyawa mayoritas minyak atsiri pada biji pala dan kemampuan sebagai anti bakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

2. Klasifikasi variabel utama

Klasifikasi diperlukan untuk menentukan pengambilan data dan metode analisis data berdasarkan pada hubungan sebab akibat menjadi variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi minyak atsiri biji pala bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah volume minyak atsiri, pelarut, suhu pengeringan simplisia

dan suhu destilasi, metode penelitian, alat-alat yang digunakan, media bakteri, bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kondisi penelitian GC-MS. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah senyawa biji pala dan uji antibakteri (KBM dan KHM) terhadap bakteri *Ecschericia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3. Definisi operasional variabel utama

Definisi operasional variabel utama yang pertama, biji pala adalah biji pala yang berasal dari buah pala yang berwarna kuning kecoklatan. Buah pala yang digunakan berasal dari daerah Bergas, Semarang. Definisi operasional variabel utama yang kedua, minyak atsiri adalah metabolit sekunder yang berasal dari kulit biji pala yang mempunyai aktivitas antibakteri. Definisi operasional variabel utama yang ketiga, analisis kandungan senyawa pada biji pala meliputi identifikasi senyawa dengan GC-MS dan pengujian aktivitas antibakteri.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, labu alas bulat 1000ml, timbangan analitik, magnetik stirer, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, GC-MS (Shimadzu QP 2010), vial, mikropipet, autoklaf, inkubator (Shimadzu), tabung reaksi, cawan petri, spet, paper disk, pinset, penggaris, jarum ose, pembakar spirtus, kapas lidi steril.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah biji pala, aquadestilata, minyak goreng, bahan-bahan kimia (e-Merck) : n-heksana pa, Aseton pa, media MHA pa, media BHI pa, Media EA pa, Media VJA pa, Media uji biokimia, Standar Mc Farlan 0,5, Tetracilin 30 µg/disk, biakan murni bakteri *E.coli* ATCC 25922 dan *S.aureus* ATCC 25923 koleksi Universitas Setia Budi.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah pala dari tanaman pala, diambil saat tanaman masih segar dengan buah pala yang berwarna kuning kecoklatan di daerah Bergas, Semarang.

2. Identifikasi tanaman pala

Tahap penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel tanaman pala berkaitan dengan buah pala. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

3. Preparasi sampel

Sampel buah pala dipisahkan menjadi 3 bagian, yaitu daging buah, biji dan kulit (fuli). Biji pala dikumpulkan dan ditimbang, kemudian dikering anginkan sampai kering keras. Biji yang sudah kering diserbukkan. Hasil penyerbukan disimpan dalam wadah tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian.

4. Isolasi minyak atsiri

Hasil penyerbukan ditimbang, kemudian dimasukkan kedalam labu alas bulat 1000mL, ditambahkan dengan akuadestilata 5 kali dari berat sampel. Kemudian dipasang alat distilasi dengan suhu sebesar 200 °C hingga minyak atsiri pada sampel habis. Dipisahkan minyak dari air dengan ditambahkan natrium sulfat anhidrat dan disimpan tertutup rapat.

5. Identifikasi minyak atsiri

Diambil sebanyak 0,1 mL minyak atsiri hasil distilasi untuk dilakukan pengujian GC-MS. Dilarutkan dengan n-heksana dengan perbandingan 1:10 kemudian dimasukkan dalam vial khusus untuk pengujian GC-MS.

6. Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian antibakteri yang pertama dilakukan dengan sterilisasi alat, disiapkan media pertumbuhan bakteri dan dikembangbiakkan bakteri.

6.1 . Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi yaitu dengan diambil 1-3 ose biakan bakteri dan dimasukkan pada 10 mL media BHI kemudian dibandingkan dengan standar Mc Farlan 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

6.2 Uji Biokimia

Diambil 1 ose bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Dari masing- masing koloni bakteri diinokulasikan pada media SIM, KIA, LIA dan Citrat. Inokulasi pada media SIM dilakukan dengan ditusukan pada media.

Inokulasi pada media KIA dan LIA dilakukan dengan tusuk gores. Inokulasi pada media Citrat dilakukan dengan digores.

6.3 Uji dilusi

Dibuat seri pengenceran minyak atsiri dengan konsentrasi 60; 30; 15; 7,5; 3,75; 1,875 % dengan pelarut aseton. Pengenceran dilakukan dengan disiapkan 8 tabung reaksi steril dan diberi label pada setiap tabung reaksi, kemudian dimasukkan masing-masing 0,5 mL aseton pada tabung 2-6, dimasukkan minyak atsiri sebanyak 0,5 mL dengan konsentrasi 60 % pada tabung pertama dan kedua yang dihomogenkan. Diiambil 0,5 mL larutan dari tabung kedua kemudian dimasukkan tabung reaksi ketiga kemudian dihomogenkan, begitu seterusnya sampai tabung keenam. Tabung reaksi ketujuh diisi dengan kontrol negatif yaitu pelarut sedangkan tabung kedelapan diisi dengan suspensi bakteri yang sudah diencerkan dan dibandingkan dengan standar Mc Farlan 0,5. Suspensi bakteri dimasukkan pada tabung 1-6 sebanyak 0,5 mL kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

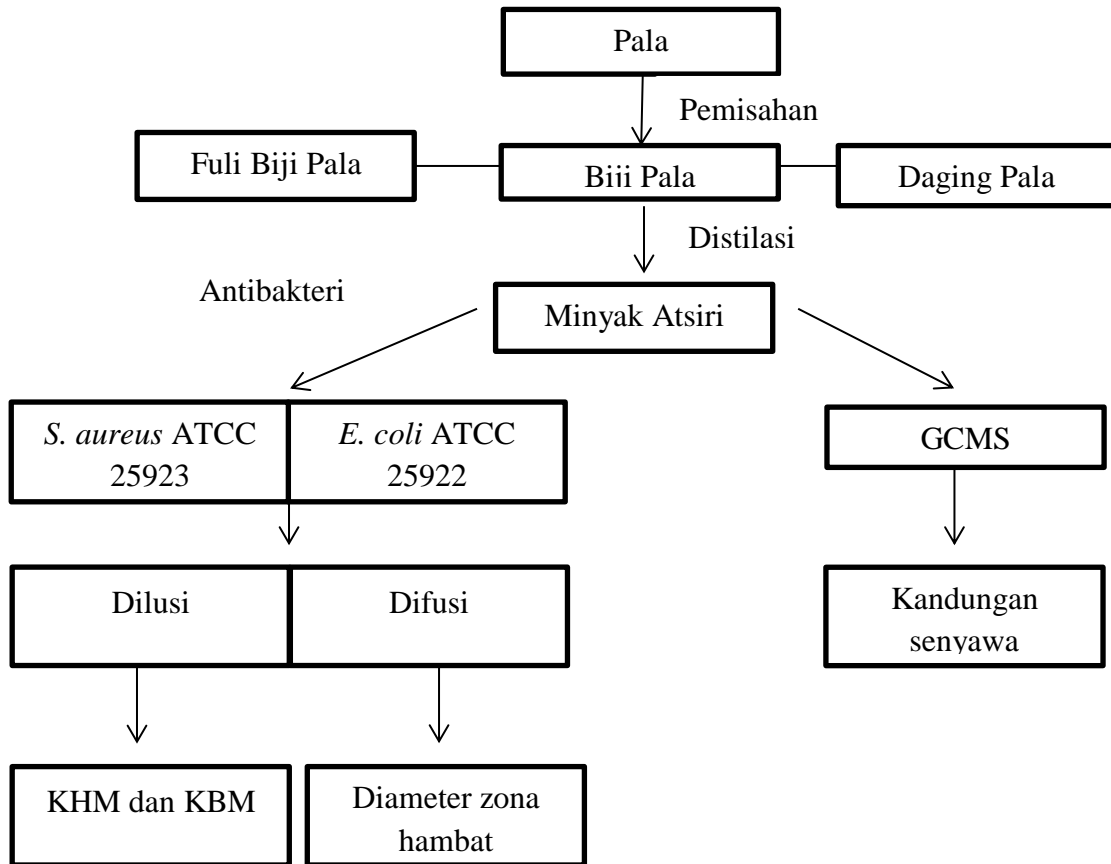
Proses pengamatan dilakukan dengan diamati kekeruhan pada tabung, kemudian untuk menentukan KHM dan KBM dari masing-masing bakteri, perlu dilakukan penggoresan pada media padat. Tabung ke-1 sampai ke-6 dan ke-8 digores pada media padat. Media yang digunakan yaitu media EA untuk *E.coli* dan media VJA untuk *S.aureus*. Media yang sudah digores, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan dan ditentukan KHM dan KBM.

6.4 Uji difusi

Uji difusi dilakukan dengan metode kertas cakram. Langkah pertama yang dilakukan dengan kertas cakram direndam pada minyak atsiri selama 3 hari, pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75; 1,88 %. Media yang digunakan yaitu media MHA yang sudah steril dan ditempatkan dalam petri disk. Langkah kedua yaitu dengan dilakukan inokulasi suspensi bakteri dengan kapas lidi steril. Penanaman dilakukan dengan metode perataan, kemudian ditunggu beberapa saat agar hasil suspensi bakteri berdifusi selama ± 5 menit. Cakram yang sudah direndam dalam minyak atsiri, dimasukkan pada media dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan diukur diameter zona hambat yang terbentuk. Kontrol + yang digunakan adalah Tetrasiklin 30 μ g/disk dan kontrol – yang digunakan adalah pelarut aseton pa.

E. Analisis Hasil

Metode yang digunakan untuk analisis hasil adalah membandingkan hasil GC-MS, kemudian membuat fragmentasi dari senyawa biji pala. Fragmentasi dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia, kemudian dilakukan studi pustaka tentang senyawa biji pala dan mekanismenya sebagai antibakteri.

F. Skema Penelitian**Gambar 4 Skema penelitian**

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi Sampel

Sampel pala yang digunakan adalah buah pala segar yang diambil dari daerah Bregas, Semarang, Jawa tengah. Buah Pala yang diambil yaitu buah pala yang berwarna kuning kecoklatan. Tujuan pengambilan buah pala dengan buah pala yang berwarna kuning kecoklatan yaitu agar buah pala tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, karena dapat mempengaruhi jumlah randemen pada minyak atsiri.

Preparasi sampel dilakukan dengan menimbang buah pala segar kemudian memisahkan buah pala menjadi tiga bagian yaitu daging, biji dan kulit biji (fuli).



A B C
Gambar 5 (A) biji pala kering, (B) daging buah pala basah, (C) fuli pala kering

Berat dari masing-masing bagian terdapat pada tabel berikut.

Tabel 2 Berat bagian buah pala

Bagian	Berat	%
Keseluruhan buah pala	5000 g	100
Daging buah pala	4000 g	80
Fuli (kulit biji) buah pala	200 g	4
Biji buah pala	800 g	16

Pengeringan sampel dilakukan dengan metode kering-angin. Pemilihan metode kering angin didasarkan pada penelitian Shopia G. Sipahelut dan Ivone

Telussa (2011) tentang proses pengeringan akan mempengaruhi hasil minyak atsiri. Proses pengeringan kering angin lebih efektif dibandingkan dengan metode lain, karena metode kering-angin tidak menyebabkan hilangnya senyawa penting dari minyak atsiri biji pala. Biji pala yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender, tujuan dari penghalusan ini adalah memperluas permukaan partikel dari biji pala agar lebih efektif untuk isolasi minyak atsiri. Biji pala yang dihasilkan dari metode kering angin sebesar 72,36 g. Preparasi ini bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam biji sehingga menginaktifkan enzim yang berada dalam biji pala, karena distilasi dilakukan satu minggu setelah biji pala kering.

B. Hasil isolasi minyak atsiri

Minyak atsiri biji pala diperoleh dari hasil distilasi air. Pemilihan metode distilasi air dikarenakan metode ini lebih efektif dibandingkan dengan distilasi uap air. Proses distilasi dilakukan dengan memasukkan sampel yang telah di preparasi kemudian ditambahkan dengan air dengan perbandingan 1:5. Penambahan air bertujuan sebagai media pembawa minyak atsiri. Ruang partikel sampel akan terisi dengan air sehingga terjadi perpindahan zat dalam sampel menuju media pembawa. Labu alas bulat yang telah berisi sampel, media pembawa, dan magnetik stirer dimasukkan dalam minyak goreng yang menutup hingga batas antara media pembawa. Minyak goreng digunakan untuk mertakan pemanasan sehingga sampel dapat terdistilasi dengan baik. Pemanasan dari *hotplate* (150 °C) menyebabkan air mendidih kemudian menguap dan semua cairan cenderung

berubah menjadi uap. Kecenderungan untuk menguap tergantung pada tekanan uap dari cairan tersebut. Pada umumnya senyawa-senyawa dari campuran cairan mempunyai tekanan uap yang berbeda pada suhu tertentu. Jika campuran diuapkan maka senyawa yang memiliki tekanan uap lebih besar cenderung untuk menguap terlebih dahulu, sedangkan senyawa yang lambat menguap akan cenderung tetap dalam fasa cair (Ansory, 2014). Penggunaan *hotplate* bertujuan agar pemanasan distilasi stabil dan tidak mempengaruhi hasil randemen minyak dibandingkan dengan menggunakan pemanasan spirtus.

Hasil minyak atsiri biji pala yang diperoleh adalah sebanyak 2,6 mL dengan randemen sebesar 0,3%. Volume minyak yang diperoleh dipengaruhi oleh proses distilasi, pada saat distilasi cela antara masing-masing alat tidak di tutup menggunakan gipsum. Randemen minyak atsiri biji pala apabila dibandingkan dengan minyak atsiri fuli pala pada penelitian Hidayah (2018) tergolong kecil karena, minyak atsiri yang dihasilkan dari fuli lebih banyak.

Tabel 3 Hasil randemen minyak atsiri biji pala

Berat Basah	Berat Kering	Volume Minyak	Berat Minyak	Randemen
80 gram	72,36 gram	2,6 mL	2,41 gram	0,30%

Tabel 4 hasil perbandingan minyak biji dan minyak fuli

Pembanding	Biji Pala	Fuli Pala
volume minyak	2,6 mL	6,6 mL
berat minyak	2,41 g	7,12 g
Randemen	0,30 %	3,56 %

Secara organoleptis hasil minyak atsiri biji pala dibandingkan dengan SNI.

Hasil perbandingan dapat di lihat pada tabel 5.

Tabel 5 Hasil perbandingan minyak atsiri dengan SNI.

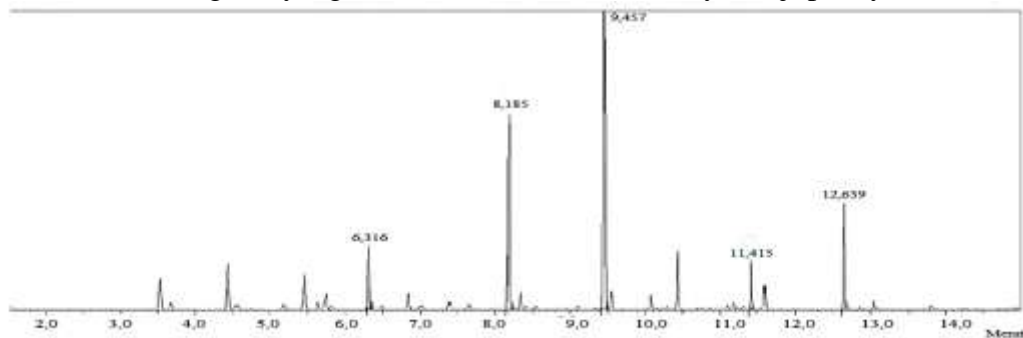
Pembanding	Pengamatan	SNI
Warna	Kuning muda	Jernih-Kuning muda
Bau	Khas minyak pala	Khas minyak pala
BJ (20 °C/ 20 °C)	0,92 (suhu kamar)	0,88-0,90
Kelarutan dalam etanol 96%	1:3	1:1-1:3
Kandungan miristisin	6,13 %	Minimal 10%

Perbandingan menunjukkan bahwa hasil isolasi minyak atsiri biji pala tidak berbeda jauh dengan standar minyak, walaupun kandungan miristisin tidak sebanyak standar. Kandungan miristisin ini dipengaruhi oleh cara isolasi minyak.

C. Hasil GC-MS dan fragmentasi minyak atsiri biji pala

Minyak atsiri yang sudah terisolasi, dilakukan uji dengan metode GC-MS untuk mengetahui kandungan senyawanya. Senyawa minyak atsiri dipisahkan oleh kromatografi gas (GC) berdasarkan titik didihnya. Masing-masing dari komponen yang terpisahkan masuk kedalam spektrofotometri massa (MS) dan akan terdeteksi oleh detektor dari MS. Masing-masing komponen yang terpisah akan terdeteksi dan terpecahkan dan disebut sebagai fragmentasi senyawa.

Kromatogram yang dihasilkan dari analisis minyak biji pala yaitu :

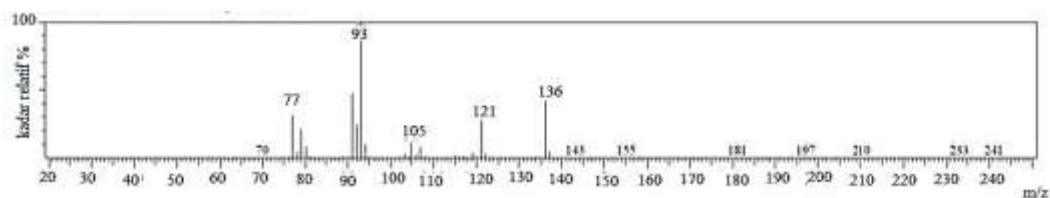


Gambar 6 Kromatogram hasil GC minyak atsiri biji pala

Analisis kandungan senyawa minyak atsiri biji pala dilakukan pada senyawa yang dominan dalam minyak biji pala. Senyawa yang dominan yaitu

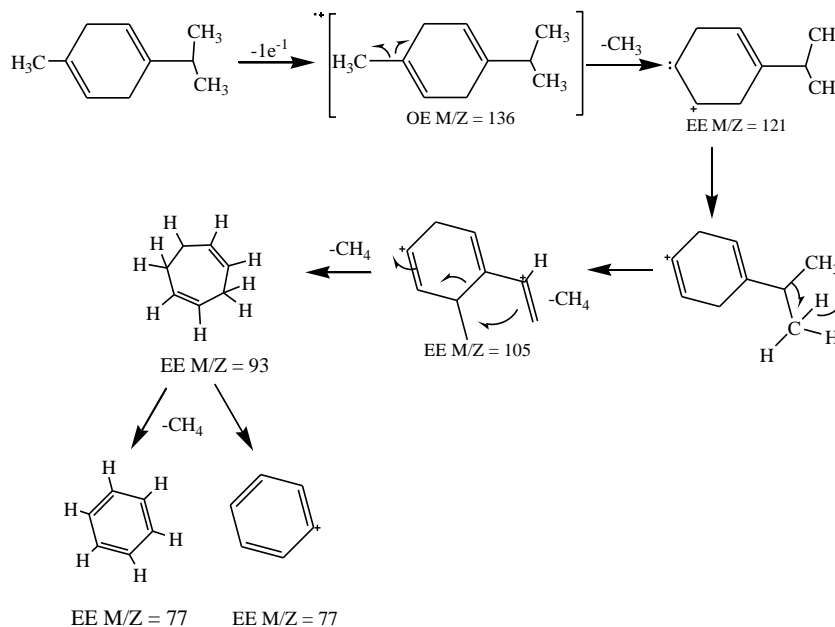
senyawa yang mempunyai puncak lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya. Puncak tertinggi yang dihasilkan yaitu 5 puncak tertinggi pada waktu retensi 6,316; 8,185; 9,457; 11,415 dan 12,639. Setiap senyawa mempunyai spektrum massa yang berbeda-beda. Perbedaan analisis puncak pada analisis biji pala dan penelitian fuli pala yang dilakukan Hidayah (2018) adalah perbedaan 1 puncak. Pada biji ditambahkan puncak pada menit 11,415 yang di prediksi merupakan molekul dari miristisin.

Senyawa pertama yaitu senyawa pada waktu retensi 6,316 menit :

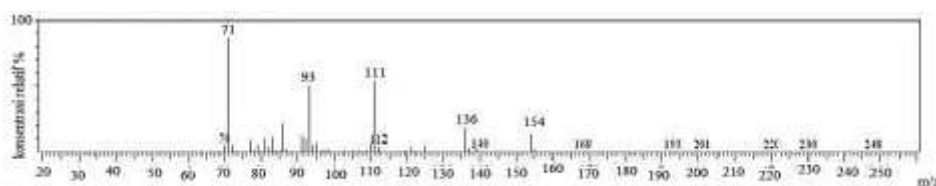


Gambar 7 spektrum massa senyawa pada waktu retensi 6,316 menit

Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 136 dan diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul $C_{10}H_{16}$, berdasarkan pustaka senyawa tersebut mempunyai fragmen mirip dengan senyawa γ -terpine. Prediksi rumus molekul senyawa dapat digunakan untuk mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa $C_{10}H_{16}$ mempunyai DBE = 3, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 siklik yang mempunyai 2 ikatan rangkap 2. Berdasarkan data dan analisis yang dilakukan maka diusulkan pola fragmentasi dari senyawa γ -terpine adalah :

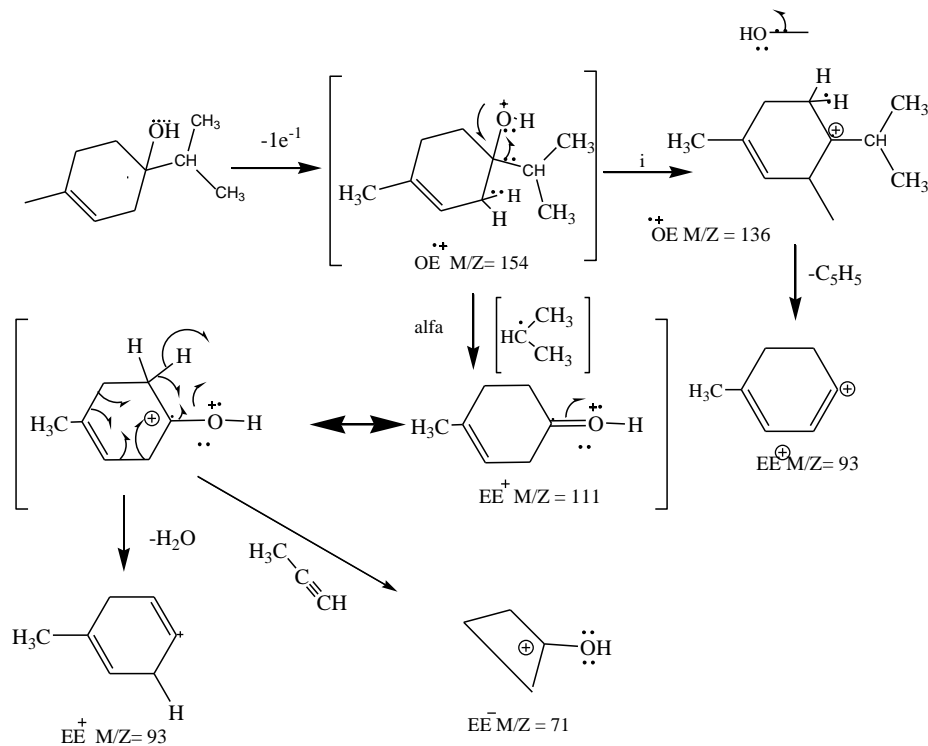


Gambar 8 Pola Fragmentasi gamma-terpinene
Senyawa kedua yaitu senyawa pada waktu retensi 8,185 menit :



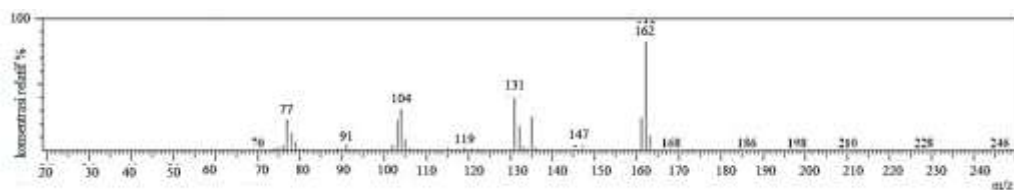
Gambar 9 Spektrum massa senyawa pada waktu retensi 8,185 menit
Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 154 dan

dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul $C_{10}H_{18}O$ dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen mirip dengan senyawa 3-cyclohexene-1-ol,4-methyl-1-(1-methylethyl). Prediksi rumus molekul senyawa dapat digunakan untuk mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa $C_{10}H_{18}O$ mempunyai nilai $DBE = 2$, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 siklik yang mempunyai 1 ikatan rangkap 2. Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan diusulkan pola fragmentasi dari senyawa 3-cyclohexene-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl) adalah:



Gambar 10 Pola fragmentasi senyawa 3-cyclohexene-1-ol

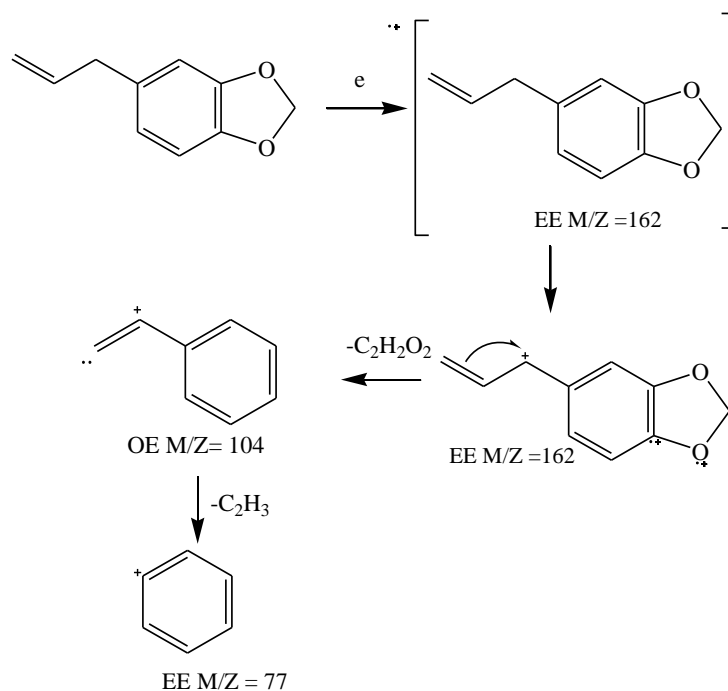
Senyawa ketiga yaitu senyawa pada waktu retensi 9,457 menit :



Gambar 11 Spektrum massa senyawa pada waktu retensi 9,457 menit

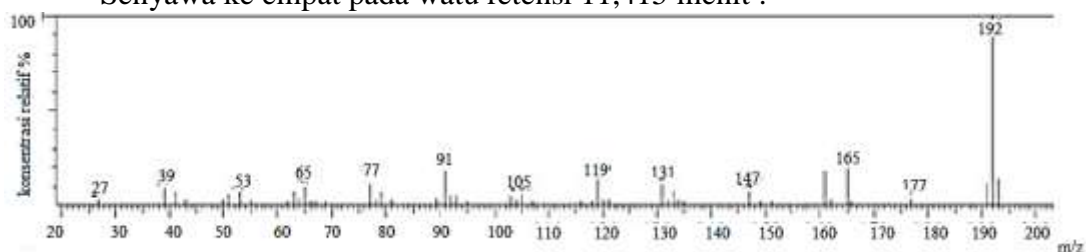
Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 162 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul $C_{10}H_{10}O_2$ dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen mirip dengan senyawa Safrol. Prediksi rumus molekul senyawa dapat digunakan untuk mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa $C_{10}H_{10}O_2$ mempunyai nilai $DBE = 6$, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 siklik aromatis yang

mempunyai 1 ikatan rangkap 2. Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan berdasarkan chemdraw maka pola fragmentasi dari senyawa Safrol adalah:



Gambar 12 Pola Fragmentasi senyawa Safrol

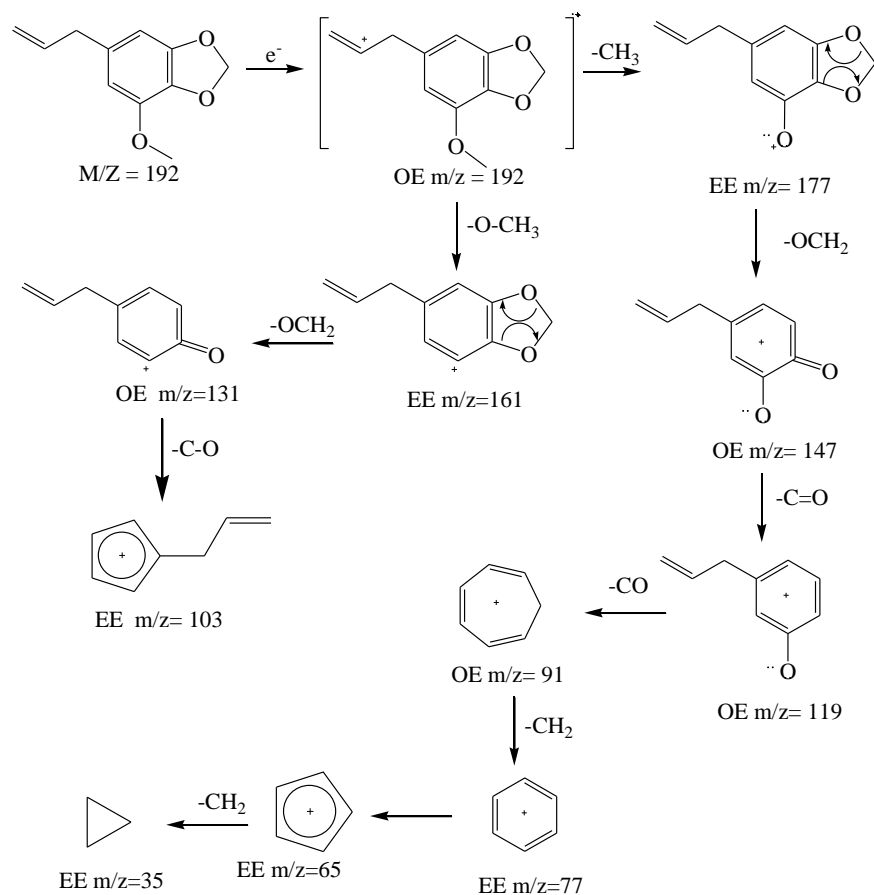
Senyawa ke empat pada waktu retensi 11,415 menit :



Gambar 13 Spektrum masa senyawa pada waktu retensi 11,415 menit

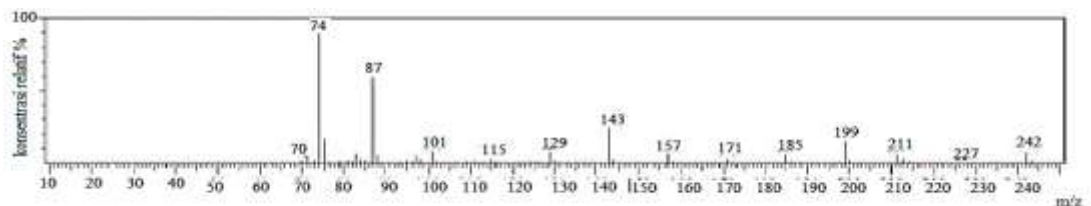
Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 192 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul $C_{11}H_{12}O_3$ dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen mirip dengan senyawa Miristisin. Prediksi rumus molekul senyawa dapat digunakan untuk

mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa $C_{11}H_{12}O_3$ mempunyai nilai DBE = 6, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 siklik aromatis yang mempunyai 1 ikatan rangkap 2. Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan diusulkan pola fragmentasi dari senyawa miristisin adalah:



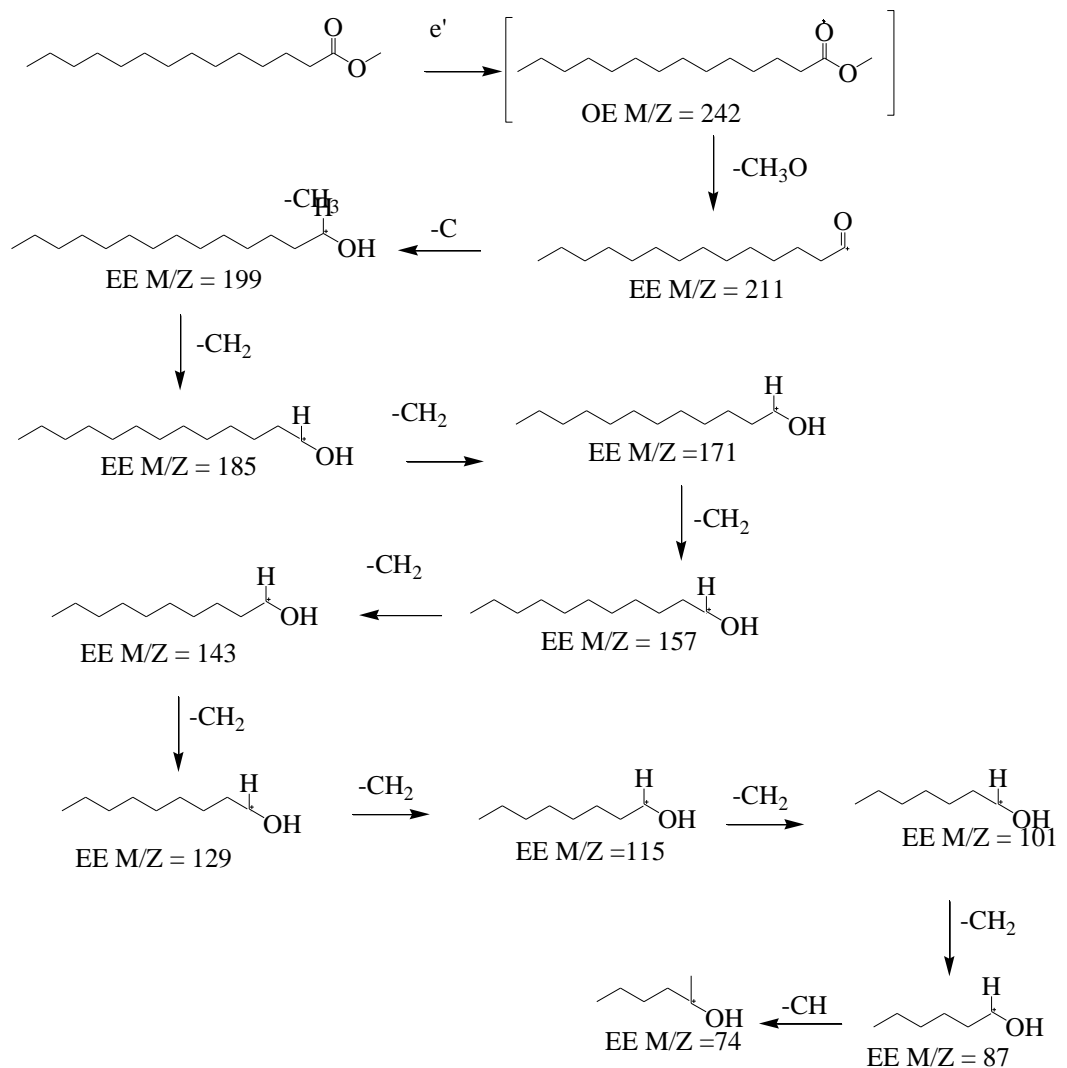
Gambar 14 Pola Fragmentasi Miristisin (Ansory, 2014)

Senyawa ke lima yaitu senyawa pada waktu retensi 14,935 menit :



Gambar 15 Spektrum massa senyawa pada waktu retensi 14,935 menit

Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan dengan chemdraw maka pola fragmentasi dari senyawa metil miristat adalah:



Gambar 16 Pola fragmentasi metil miristat

Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 242 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul $C_{15}H_{30}O_2$ dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen mirip dengan

senyawa metil ester. Prediksi rumus molekul senyawa dapat digunakan untuk mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa $C_{15}H_{30}O_2$ mempunyai nilai DBE = 1, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 ikatan rangkap 2.

D. Hasil identifikasi bakteri.

Suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari biakan bakteri murni diinokulasikan pada media SIM, KIA, LIA dan Citrat kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Uji biokimia didasarkan pada kemampuan metabolisme bakteri pada media agar. Hasil identifikasi bakteri secara biokimia yaitu :

Tabel 6 Hasil Uji biokimia *Escherichia coli* ATCC 25922

Media	Hasil
KIA	A _A S-
SIM	- - +
LIA	K _K S-
Citrat	-

KIA : Bagian lereng dan dasar berwarna kuning dan medium tidak berwarna hitam (sulfida negatif), hal ini menunjukkan bakteri dapat memfermentasi gula dan pembentukan gas atau pembentukan H₂S.

SIM : *E.coli* tidak menghasilkan sulfida dan indol negatif menunjukkan bakteri tidak menghasilkan enzim triptophase. Motilitas positif karena bakteri memiliki alat gerak.

LIA : Hasil reaksi K_K di LIA sehingga positif terhadap lisin dekarboksilase, sedangkan reaksi terhadap lisin deaminasi negatif ditunjukkan dengan slant yang tetap berwarna ungu, dan medium tidak berwarna hitam.

CITRAT : negatif, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mampu menggunakan citrat sebagai karbon tunggal.

Uji pada media SIM tidak sesuai dimungkinkan ketika penambahan pereaksi untuk indol kurang banyak, atau ketika pengamatan kurang terdeteksi. Media selain SIM hasilnya sesuai dengan bakteri *Escherichia coli* sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut memang bakteri *Escherichia coli*.

Tabel 7 Hasil uji biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Media	Hasil
KIA	A _A S-
SIM	++ -
LIA	K _K S+
Citrat	+

KIA : Bagian lereng dan dasar berwarna kuning dan medium tidak berwarna hitam (sulfida negatif), hal ini menunjukkan bakteri dapat memfermentasi gula dan tidak terdapat pembentukan gas atau pembentukan H₂S.

SIM : *Staphylococcus* menghasilkan sulfida dan indol positif menunjukkan bakteri menghasilkan enzim triptophase. Motilitas negatif karena bakteri tidak memiliki alat gerak.

LIA : Hasil reaksi K_K di LIA sehingga positif terhadap lisin dekarboksilase, sedangkan reaksi terhadap lisin deaminasi positif ditunjukkan dengan slant yang berwarna hitam, dan medium tidak berwarna hitam.

CITRAT : positif, hal ini menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan citrat sebagai karbon tunggal.

E. Hasil Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Biji Pala

4.1 Uji dilusi

Pengujian dilusi digunakan untuk mengetahui nilai KBM dan KHM dari senyawa minyak atsiri biji pala terhadap bakteri. Nilai ini diperlukan untuk mengetahui konsentrasi yang dapat menghambat dan membunuh bakteri dalam konsentrasi terkecil. Minyak atsiri dibuat dalam 6 konsentrasi yaitu 60; 30; 15; 7,5; 3,75; dan 1,88%. Kontrol positif yang digunakan adalah biakan murni bakteri, sedangkan untuk kontrol negatif merupakan pelarut aseton pa dan kontrol positif negatif minyak atsiri. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasil dari inkubasi dilusi dapat dilihat dalam tabel berikut :

Tabel 8 Hasil KHM minyak atsiri biji pala terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

No	Konsentrasi minyak atsiri (%)	Hasil Pengamatan	Hasil
1	kontrol +	Keruh	+
2	60	Bening	-
3	30	Tidak bercampur	-
4	15	Tidak bercampur	-
5	7,5	Tidak bercampur	-
6	3,75	Tidak bercampur	-
7	1,88	Tidak bercampur	-
8	kontrol -	Bening	-

Keterangan :

Kontrol + : berisi suspensi bakteri

Kontrol - : berisi minyak atsiri biji pala

Tabel 8 dan tabel 9 menunjukkan bahwa aktifitas antibakteri minyak atsiri biji pala pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tidak dapat diketahui nilai KHM dan KBM karena pada saat pencampuran minyak atsiri dan bakteri

larutan di dalam tabung menjadi tidak bercampur. Hal ini dimungkinkan karena senyawa yang terdapat dalam minyak bereaksi dengan media, karena perbedaan kepolaran sehingga KHM dan KBM tidak dapat ditentukan. Sehingga dilakukan penentuan aktivitas anti bakteri dengan metode difusi.

Tabel 9 Hasil KBM minyak atsiri biji pala terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

No	Konsentrasi minyak atsiri (%)	Hasil penggoresan tabung bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada media		
		1	2	3
1	kontrol +	+	+	+
2	60	-	-	-
3	30	-	-	-
4	15	-	-	-
5	7,5	-	-	-
6	3,75	-	-	-
7	1,88	-	-	-
8	kontrol -	-	-	-

Keterangan :

(+) : Terdapat pertumbuhan bakteri

(-) : Tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Tabel 10 Hasil KHM minyak atsiri biji pala terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

No	Konsentrasi minyak atsiri (%)	Hasil pengamatan	Hasil
1	kontrol +	Keruh	+
2	60	Bening	-
3	30	Tidak bercampur	-
4	15	Tidak bercampur	-
5	7,5	Tidak bercampur	-
6	3,75	Tidak bercampur	-
7	1,88	Tidak bercampur	-
8	kontrol -	Bening	-

Keterangan :

Kontrol + : berisi suspensi bakteri

Kontrol - : berisi minyak atsiri biji pala

Tabel 10 dan tabel 11 menunjukkan bahwa aktifitas antibakteri minyak atsiri biji pala pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 tidak dapat diketahui nilai KHM dan KBM karena pada saat pencampuran minyak atsiri dan bakteri larutan di dalam tabung menjadi tidak bercampur. Hal ini dimungkinkan karena senyawa yang terdapat dalam minyak bereaksi dengan media, karena perbedaan kepolaran sehingga KHM dan KBM tidak dapat ditentukan. Sehingga dilakukan penentuan aktivitas anti bakteri dengan metode difusi.

Tabel 11 Hasil KBM minyak atsiri biji pala terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

No	Konsentrasi minyak atsiri (%)	Hasil penggoresan tabung bakteri <i>E. coli</i> pada media		
		1	2	3
1	kontrol +	+	+	+
2	60	-	-	-
3	30	-	-	-
4	15	-	-	-
5	7,5	-	-	-
6	3,75	-	-	-
7	1,88	-	-	-
8	kontrol -	-	-	-

Keterangan :

- (+) : Terdapat pertumbuhan bakteri
- (-) : Tidak terdapat pertumbuhan bakteri

4.2 Uji Difusi

Hasil pengujian efektivitas antibakteri minyak atsiri biji pala terhadap *E. coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi. Minyak atsiri dibuat dalam 5 konsentrasi yaitu 30; 15; 7,5; 3,75; dan 1,88 %. Kontrol positif yang digunakan adalah Tetraciklin HCl, sedangkan untuk kontrol negatif merupakan pelarut aseton pa. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C

selama 24 jam. Daya hambat antibakteri dapat dilihat dari ada atau tidaknya zona hambat yang diukur dalam milimeter dan dibandingkan dengan kontrol positif yaitu antibiotik terasiklin.

Tabel 12 Hasil uji difusi minyak atsiri biji pala terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

<i>Escherichia coli</i>	Replikasi 1 (mm)	Replikasi 2 (mm)	Rata-rata
kontrol +	21,6	21,6	21,6
kontrol -	0	0	0
30%	11	10,6	10,8
15%	10	11,2	10,6
7,50%	9	7,3	8,15
3,75%	0	5	2,5
1,88%	0	9,3	4,65

Keterangan :

Kontrol + = Tetrasiklin HCl
 Kontrol - = Pelarut Aseton pa

Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri biji pala pada tabel 12 menunjukkan bahwa konsentrasi terendah 1,88% dan dapat menghambat *Escherichia coli* ATCC 25922 dan mempunyai diameter zona hambat sebesar 4,65 mm. Respon hambat ini tergolong lemah, karena menurut Pratiwi (2008) penggolongan antibakteri dengan diameter zona hambat 1-5 mm termasuk lemah. Hasil pengujian antibakteri berkisar pada range tersebut sehingga minyak atsiri biji pala mempunyai respon hambat lemah terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Salah satu faktor yang mempengaruhi hasil difusi ini adalah perendaman cakram selama 3 hari. Dimungkinkan bahwa sampel minyak atsiri yang mudah menguap sehingga konsentrasi minyak yang berada di kertas cakram sedikit sehingga mempengaruhi hasil diameter zona hambat.

Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri biji pala pada tabel 13 menunjukkan bahwa konsentrasi terendah 15% dan dapat menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan mempunyai diameter zona hambat sebesar 11,8 mm \pm 1,59. Respon hambat ini tergolong kuat, karena menurut Pratiwi (2008) penggolongan antibakteri dengan diameter zona hambat 11-20 mm termasuk kuat. Hasil pengujian antibakteri berkisar pada range tersebut sehingga minyak atsiri biji pala mempunyai respon hambat kuat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Salah satu faktor yang mempengaruhi hasil difusi ini adalah perendaman cakram selama 3 hari. Dimungkinkan bahwa sampel minyak atsiri yang mudah menguap sehingga konsentrasi minyak yang berada di kertas cakram sedikit sehingga mempengaruhi hasil diameter zona hambat.

Tabel 13 Hasil uji difusi minyak atsiri biji pala terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

<i>Staphylococcus aureus</i>	Replikasi 1 (mm)	Replikasi 2 (mm)	Replikasi 3 (mm)	Rata-rata	SD
kontrol +	29,25	29,25	29,25	29,5	0
kontrol -	0	0	0	0	0
30%	11	14,2	14,2	13,13	1,85
15%	10	12,4	13	11,8	1,59
7,50%	0	0	0	0	0
3,75%	0	0	0	0	0
1,88%	0	0	0	0	0

Keterangan :

Kontrol + = Tetrasiklin HCl
Kontrol - = Pelarut Aseton pa

Aktivitas antibakteri pada minyak atsiri biji pala terjadi karena reaksi senyawa-senyawa tertentu. 5 senyawa dominan yang terdapat dalam minyak biji pala memiliki aktifitas yang berbeda-beda. Senyawa tersebut antara lain γ -terpinene, 3-cyclohexene-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl), safrol, miristisin, dan metil ester.

Mengacu pada Rastuti dkk (2013) turunan fenol pada minyak atsiri biji pala berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran lisis (Parwata dan Dewi, 2008).

Efek anti-inflamsi miristisin pada RAW 264.7 Macrophages Stimulated dengan asam Polyinosinic-Polycytidylic bahwa mekanisme miristisin dalam menghambat inflamasi belum diketahui (Ji Young Lee and Wansu Park, 2011). Namun senyawa miristisin dapat menghambat agen inflamasi.

γ -terpinene merupakan salah satu senyawa terpenoid yang terkandung dalam minyak atsiri biji pala. Senyawa terpenoid merusak membran sel, rusaknya membransel menyebabkan substansi penting keluar dari sel dan juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel. (Monalisa *et al.*, 2011).

Asam miristat merupakan salah satu asam lemak jenuh. Asam lemak jenuh dan tak jenuh yang memiliki atom karbon lebih dari sepuluh yang dapat menyebabkan protoplas bakteri mengalami lisis dengan cara mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri atau kematian pada bakteri patogen yang diujikan (Naviner *et al.*, 1999).

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dapat ditarik kesimpulan :

1. Biji pala mengandung minyak atsiri dengan 5 senyawa komponen utama yaitu γ -terpinene, 3-cyclohexene-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl), safrol, miristisin, metil ester. Senyawa yang mempunyai kadar paling tinggi yaitu Safrol.
2. Minyak atsiri biji pala mempunyai aktivitas antibakteri dan mempunyai diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* sebesar 4,65 mm termasuk dalam kategori lemah konsentrasi terendah yang diujikan yaitu 1,875% dan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai diameter zona hambat sebesar 11,88 mm termasuk dalam kategori kuat dengan konsentrasi terendah yang menghambat adalah 15 % .

B. SARAN

1. Perlu dilakukan pengujian dilusi dengan pelarut yang lain untuk mengetahui KHM dan KBM dari minyak atsiri biji pala.
2. Perlu dilakukan fraksinasi masing-masing senyawa dari minyak atsiri biji pala untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari masing-masing senyawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, Andria. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tapioka Indonesia*. ITB Press. Bandung.
- Ansory, Hery Muhamad. 2014. *Sintesis Turunan Kalkon Dari Miristisin Minyak Pala Dan Uji Potensi Sebagai Penghambat Uv-A*. Thesis. UGM Press. Yogyakarta.
- Anonim. Gas Chromatography-Mass Spectroscopy; GC-MS. Diakses dari <https://rncdic.ntut.edu.tw/files/11-1150-8914.php>. Pada tanggal 14 April 2018 pukul 15.45.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York. Columbia University Press. 477.
- Dima, Lusi L. R. H, Fatiawati dan Widya Astuty Lolo. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi- UNSRAT Vol 5 No 2*. 282-289.
- Dzoen dan Sjoekoer, M. 2003. *Bakteriologi Medik*. Bayumedia. Malang.
- Fardiaz, Srikandi. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Guenther, Ernest. 1987. *Minyak Atsiri jilid 1*. Penerjemah S. Ketaren. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Gusni. 2011. "Spektrometri massa-MS" diakses dari <https://gusnil45mind.wordpress.com/2011/01/06/spektroskopi-massa-ms/> pada tanggal 14 April 2018 pukul 15.30.
- Hakim, Luckman. 2015. *Rempah dan Herba Kebun-Pekarangan Rumah Masyarakat*. Diandra Creative. Yogyakarta.
- Hariana, Arief. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hidayah, Nur'Aini. 2018. *Analisis Minyak Fuli Pala dengan GC-MS serta Uji Aktivitas terhadap Bakteri Escherichia coli ATCC 25922 dan*

Staphylococcus aureus ATCC 25923. KTI. Universitas Setia Budi. Surakarta.

Hidayati, Nur, Hanifia Ilmawati, dan Efani Sara. 2015. Penyulingan Minyak Biji Pala : Pengaruh Ukuran Bahan, Waktu dan Teknan Penyulingan Terhadap Kualitas dan Randemen Minyak. *Simposium Nasional Rapi XIV -2015 FT UMS*. 220-226.

Jawetz, Ernest, L., Joseph, Melnick & Edward, A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta.

Ji YL, Wansu P. 2011. Anti-Inflammatory Effect of Myristicin on RAW 264.7 Macrophages Stimulated with Polyinosinic-Polycytidylic Acid. *Molecules*. Vol.16.p.7132-7142.

Khopkar, S.M. 2014. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. A. Saptorahardjo sebagai penerjemah. UI Press. Jakarta.

Kitson, Fulton G. 1996. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry : A Practical Guide*. Academic Press. San Diego, California USA.

Koensoemardiyah. 2010. *A-Z Minyak Atsiri untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aromaterapi*. Penerbit Andi. Yogyakarta.

McNair, H.M. dan E. J. Bonelli. 1988. *Dasar Kromatografi Gas*. Dr Kosasih Padmawinata sebagai penerjemah. Penerbit ITB. Bandung.

Mudlofar, Denis. 2012. *Analisis Komposisi Minyak Atsiri Fuli dan Biji Pala Papua (Myristica argentea Warb) dengan GC-MS*. Skripsi IPB. Bogor.

Monalisa, D., Handayani, T, dan Sukmawati, D. 2011. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal BIOMA*.9(2).13-20.

Nataro, J., & Kapker, J. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology*, 11,142-201.

Naviner M, Bergee JP, Durand P, Le Bris H. 1999. Antibacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural pathogens. *Journal aquacultur*; 174: 15-24.

- Nurdjannah, Nanan. 2007. *Teknologi Pengolahan Pala*. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta.
- Pelczar, M., & Chan, E. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL sebagai penerjemah. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Parwata, I. M. O. A. dan P. F. S. Dewi. 2008. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia Galanga* L). *Jurnal*, 2 (2). pp 4-10.
- Pratama, Dewa G.A.Y, Bawa, I Gusti A.G, dan Gunawan, I Wayan G. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Minyak Atsiri dari Tumbuhan Sembukan (*Paederia foetida* L.) dengan Metode Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (GC-MS). *Jurnal Kimia 10* (1). 149-154.
- Pratiwi, Sylfia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta.
- Rastuti, Undri, Seny Widyaningsih, Dwikartika, Dian Riana Ningsih. 2013. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Pala dari Banyumas Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Serta Identifikasi Senyawa Penyusunnya. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto.
- Rachmi, Widya Adel Zamri, Yuharmen. 2014. Perbandingan Isolasi Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica Fragrans* Houtt) Cara Hidrodistilasi *Microwave* Dan Konvensional Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan. *JOM FMIPA Volume 1 No.2*.
- Rahmawaty, Dhinary Umi. 2016. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (Zea mays ssaccharta Sturt) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Rismunandar. 1990. *Budidaya dan Tataniaga Pala*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2013. *Dasar-Dasar Spektroskopi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sipahelut, Sophia G. dan Ivone Telussa. 2011. Karakteristik Minyak Atsiri dari Daging Buah Pala Melalui Beberapa Teknologi Proses. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian Vol IV No 2*. 126-134.
- Tambayong, Jan. 2000. *Mikrobiologi untuk Keperawatan*. Widya Medika. Jakarta.

- Volk, Wesley A. dan Wheeler, Margaret F. 1993. *Mikrodasar Biologi*. Soenarto Adisoemarto sebagai editor. Erlangga. Jakarta.
- Walengwangko, Gabriela V.Ch, dkk. 2015. Uji Resistensi Bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari Plak Gigi Menggunakan Merkuri dan Ampisilin. *Jurnal E Biomedik (eBm)*. Volume 3 Nomor 1. 118-124.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press. Malang.
- Wonorahardjo, Surjani. 2016. *Metode-Metode Pemisahan Kimia Sebuah Pengantar*. PT Indeks. Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Kondisi Alat CG-MS

GC – MS Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+s]

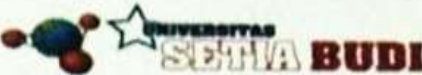
# of Rinses with Presolvent	:3
# of Rinses with Solvent(post)	:5
# of Rinses with Sample	:2
Plunger Speed(Suction)	:High
Viscosity Comp. Time	:0.2 sec
Plunger Speed(Injection)	:High
Syringe Insertion Speed	:High
Injection Mode	:Normal
Pumping Times	:5
Inj. Port Dwell Time	:0.3 sec
Terminal Air Gap	:No
Plunger Washing Speed	:High
Washing Volume	:8uL
Syringe Suction Position	:0.0 mm
Syringe Injection Position	:0.0 mm
Solvent Selection	:only A

[GC-2010]

Column Oven Temp.	:80.0 °C
Injection Temp.	:280.00 °C
Injection Mode	:Split
Flow Control Mode	:Pressure
Pressure	:80.0 kPa
Total Flow	:300.5 mL/min
Column Flow	:1.19 mL/min
Linear Velocity	:40.1 cm/sec
Purge Flow	:3.0 mL/min
Split Ratio	:250.0
High Pressure Injection	:OFF
Carrier Gas Saver	:OFF
Splitter Hold	:OFF
Oven Temp. Program	
Rate Temperature(°C) Hold Time(min)	

- 80.0	5.00
20.00 250.0	2.00
< Ready Check Heat Unit >	
Column Oven	: Yes
SPL1	: Yes
MS	: Yes
< Ready Check Detector(FTD) >	
< Ready Check Baseline Drift >	
< Ready Check Injection Flow >	
SPL1 Carrier	: Yes
SPL1 Purge	: Yes
< Ready Check APC Flow >	
< Ready Check Detector APC Flow >	
External Wait	:No
Equilibrium Time	:3.0 min
[GC Program]	
[GCMS-QP2010 Ultra]	
IonSourceTemp	:200.00 °C
Interface Temp.	:300.00 °C
Solvent Cut Time	:1.00 min
Detector Gain Mode	:Absolute
Detector Gain	:0.80 kV
Threshold	:0
[MS Table]	
--Group 1 - Event 1--	
Start Time	:1.50min
End Time	:15.00min
ACQ Mode	:Scan
Event Time	:0.30sec
Scan Speed	: 625
Start m/z	:70.00
End m/z	:250.00
Sample Inlet Unit	:GC

Lampiran 2 Hasil Determinasi Tanaman Pala



UNIVERSITAS SETIA BUDI
UPT- LABORATORIUM

No : 255/DET/UPT-LAB/10/III/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :


Nama : Prietta Khania K P
NIM : 27151355 C
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Pala / *Myristica fragrans* Houtt.**
Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA
1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15a. golongan 8. 109b - 119b - 119b - 120b - 128b - 129b - 135b - 136b - 139b - 140b - 142b - 143b - 146b - 154b - 155b - 156b - 162b - 163a - 164b - 165b - 166b. familia 51. Myristicaceae. 1. *Myristica fragrans* Houtt.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi 5 - 18 m.
Akar : Sistem akar tunggang.
Batang : Percabangan monopodial, berkayu.
Daun : **Tunggal, bulat telur atau elips memanjang, pangkal runcing, ujung meruncing, sisi bawah hijau kebiruan pucat, sisi atas hijau tua, panjang 5,3 - 14 cm, lebar 3,3 - 7 cm, waktu diremas berbau harum, tanpa daun penumpu.**
Bunga : Bunga kuning, pada pangkal dengan daun pelindung yang membulat, bunga jantan 1 - 20 dan yang betina 1 - 2 menjadi satu dalam malai yang gundul dan bercabang sedikit, beraturan, kebanyakan berkelamin 1, berumah 2. Tenda bunga bersatu, tunggal, dengan 3 taju, jarang 2 atau 4, waktu kuncup bersambung secara katup. Bunga jantan bentuk periuk, panjang 7 - 9 mm, dengan taju segitiga, tiang benang sari lebih dari separo yang atas tertutup oleh kepala sari yang berbentuk garis yang banyak. Bunga betina lebih besar, tidak ada staminodia, bakal buah menumpang, duduk, beruang 1.
Buah : Buah peer, lebar 4 - 6 x 3 - 5,5cm, gundul, kuning kecoklatan - oranye.
Biji : Bergaris-garis, berbau harum, keseluruhan dibungkus oleh selubung biji merah yang terbagi dalam taju-taju yang banyak.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT PradnyaParamita. Jl. KebonSirih 46 Jakarta Pusat, 1978.

Kartinah Wijosoendjojo, SU



Kartina Wijosoendjojo, SU

K. Let. Jen Sutopo, Mojowarno-Solo 57127 Telp. 0271-852518, Fax. 0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 3 Perhitungan

I. Berat setelah dikeringakan

Bagian Pala	Berat (gram)
Daging buah	378
Kulit biji (Fuli)	20,78
Biji	72,36

$$\begin{aligned}
 \% \text{ pengeringan} &= \frac{\text{berat biji kering (g)}}{\text{berat biji basah (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{72,36}{300} \times 100\% \\
 &= 24,12\%
 \end{aligned}$$

II. Hasil distilasi

$$\text{Volume minyak atsiri} = 2,6 \text{ mL}$$

$$\text{Berat} = 2,41 \text{ gram}$$

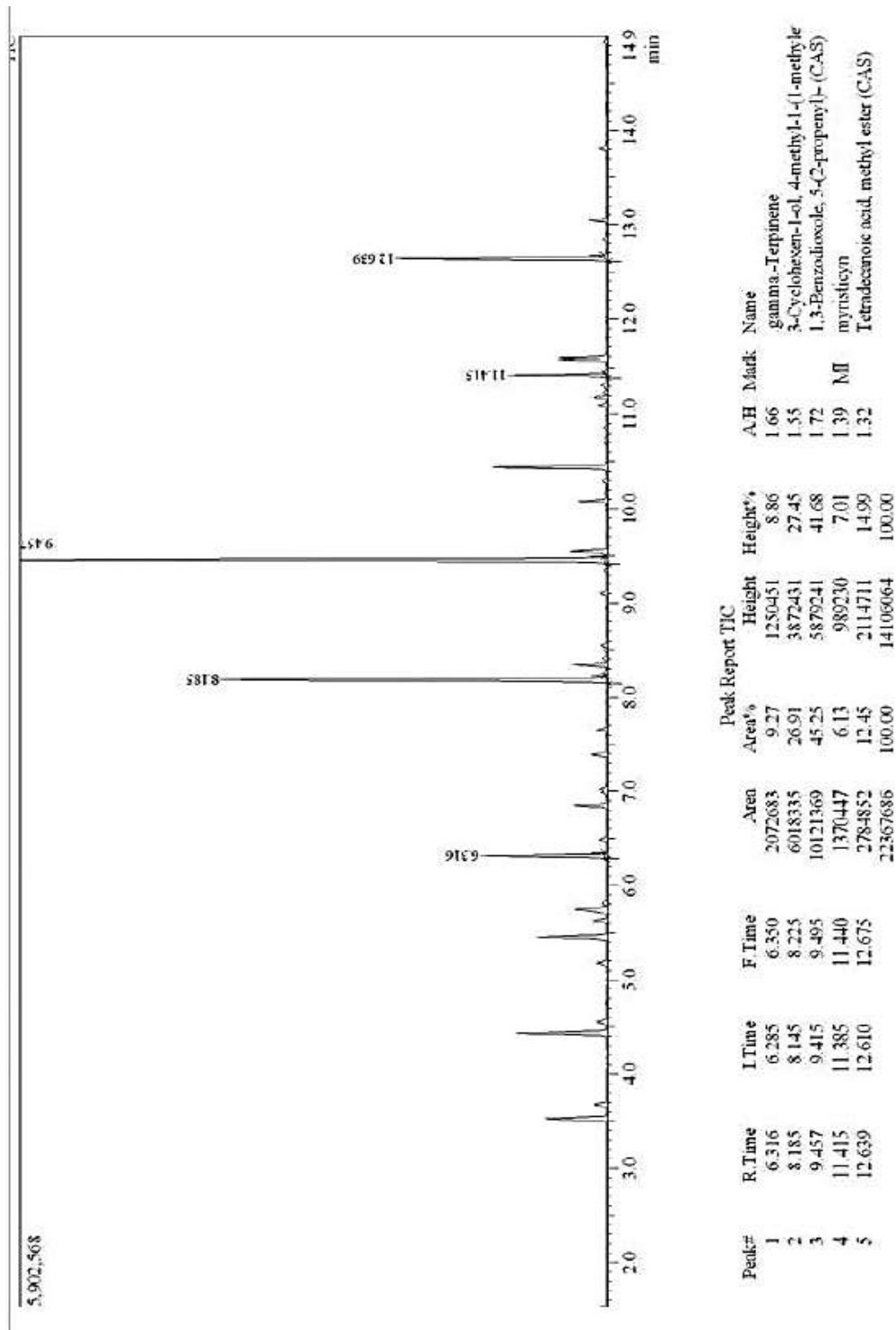
$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat minyak hasil distilasi (g)}}{\text{berat biji basah (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{2,41}{800} \times 100\% \\
 &= 0,30 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 4 Gambar alat GC-MS yang digunakan



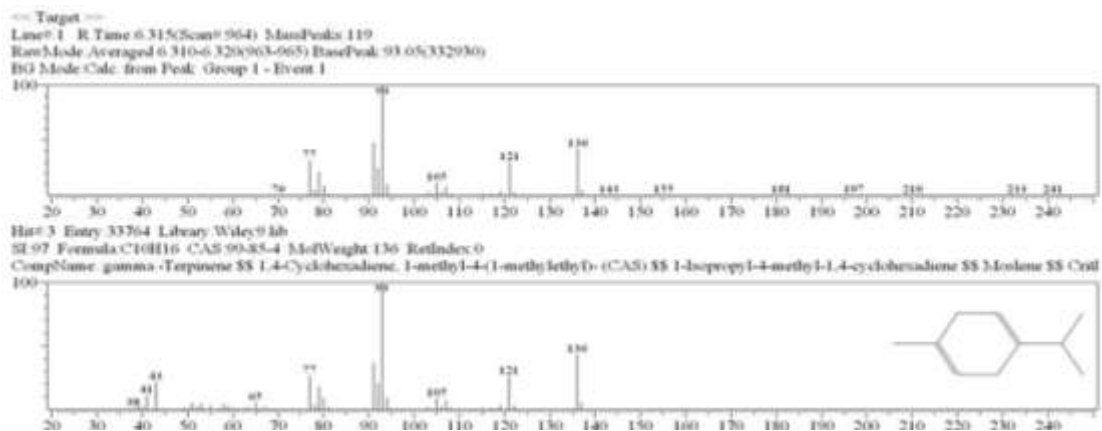
(Lab Disbun)

Lampiran 5 Gambar hasil kromatogram GC

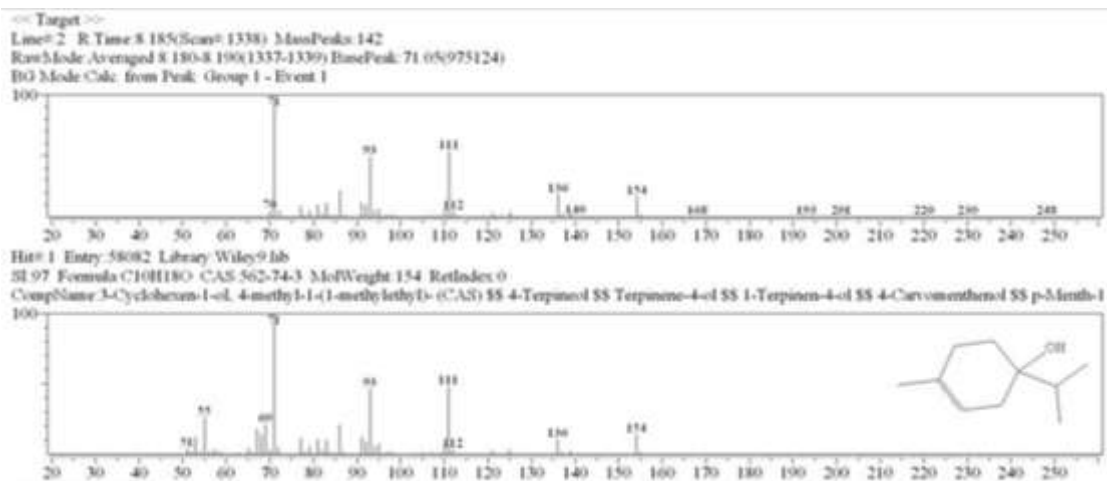


Lampiran 6 Fragmentasi MS dari puncak dominan KG

γ Terpinen



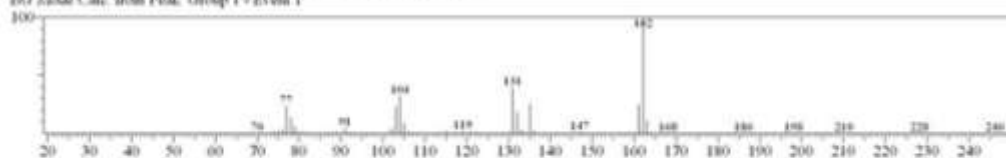
3-cyclohexene-1-ol,4-methyl-1-(1-methylethyl)



Safrol

<< Target >>

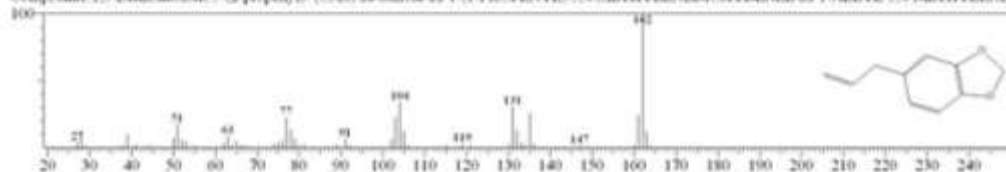
Line# 3 R Time 9.455(Scan# 1502) MassPeaks 142
 RunMode Averaged 9.450-9.460(1501-1503) BasePeak 162.10(1553178)
 BG Mode Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry 00346 Library Wiley9 lib

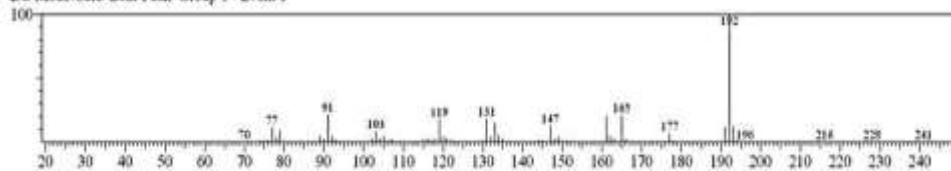
SI 98 Formula C10H10O2 CAS 94-59-7 MolWeight 162 RefIndex 0

CompName 1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- (CAS) 55 Substr 55 1-(1-PROPENYL)-3,4-METHYLENEDIOXYBENZENE 55 1-ALLYL-3,4-METHYLENE-



Miristisin

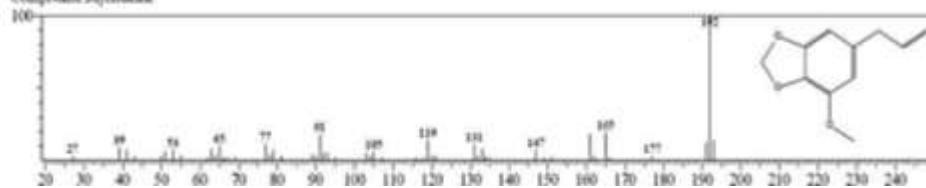
Line# 4 R Time 11.425(Scan# 1986) MassPeaks 157
 RunMode Averaged 11.420-11.430(1985-1987) BasePeak 192.05(1453016)
 BG Mode Calc. from Peak Group 1 - Event 1



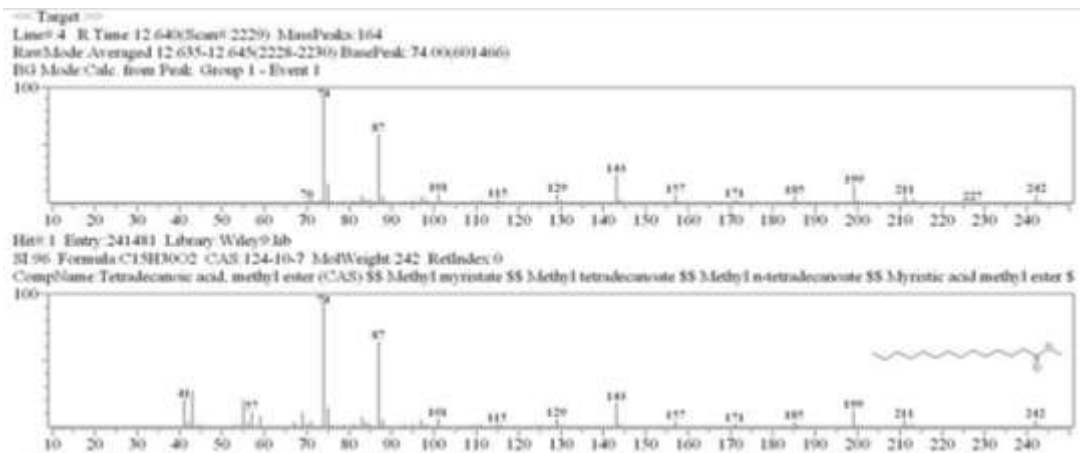
Hit# 4 Entry 124454 Library Wiley9 lib

SI 92 Formula C18H20O CAS 6-00-0 MolWeight 192 RefIndex 0

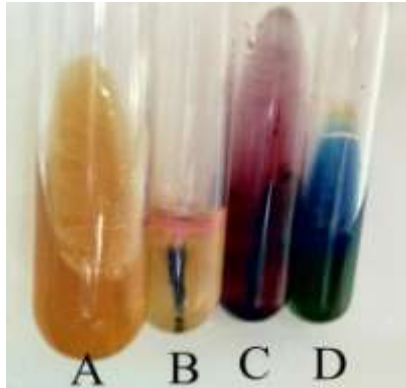
CompName Myristicin



Metil Ester

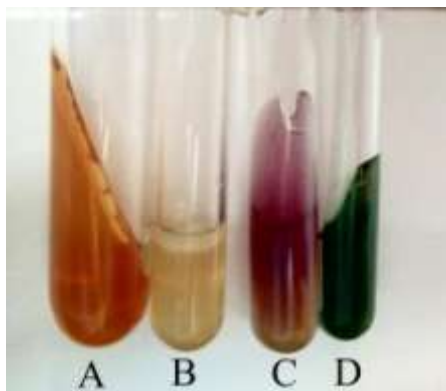


Lampiran 7 Hasil uji biokimia bakteri



A = KIA
 B = SIM
 C = LIA
 D = CITRAT

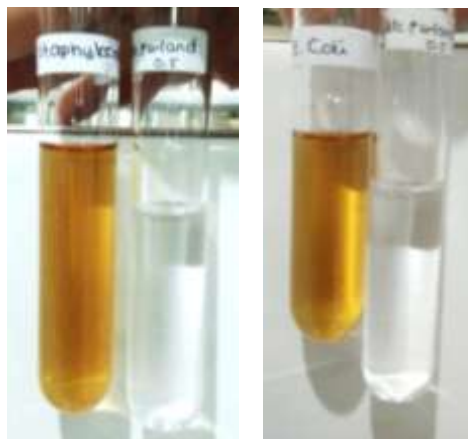
Gambar hasil Uji Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



A = KIA
 B = SIM
 C = LIA
 D = CITRAT








Gambar hasil Uji Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Lampiran 8 Hasil Uji Dilusi dan Difusi



Hasil Dilusi *Escherichia coli* ATCC 25922

Tabung








KONSENTRASI	GAMBAR
60 %	
30 %	
15 %	
7,5 %	
3,75 %	
Kontrol +	
Kontrol -	

Petri disk



Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabung

Konsentrasi	Gambar
60 %	 A test tube containing a clear, yellowish liquid.
30 %	 A test tube containing a clear, yellowish liquid.
15 %	 A test tube containing a clear, yellowish liquid.
7,5 %	 A test tube containing a clear, yellowish liquid.
3,725 %	 A test tube containing a clear, yellowish liquid.
Kontrol (+)	 A test tube containing a clear, yellowish liquid.
Kontrol (-)	 A test tube containing a clear, colorless liquid.

Petri disk



HASIL DIFUSI

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



A



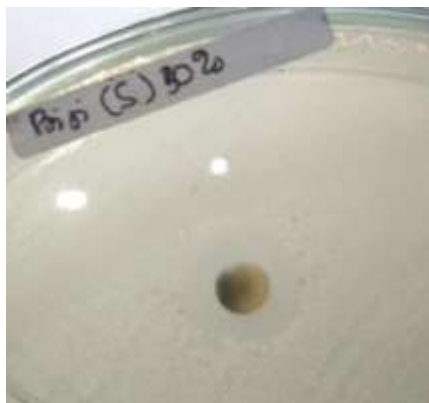
B



C



D



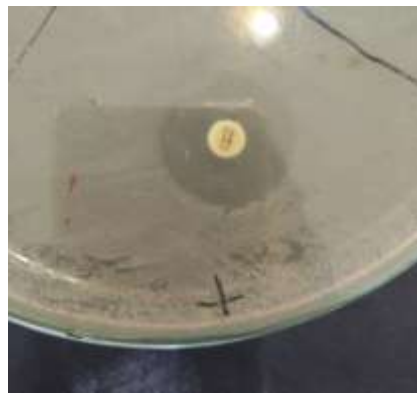
E



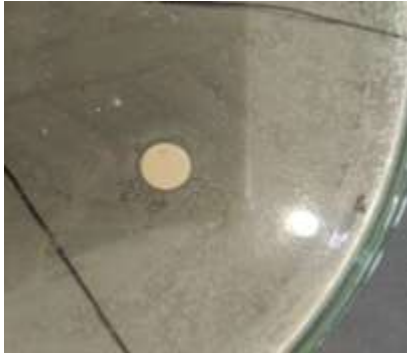
F



G



H



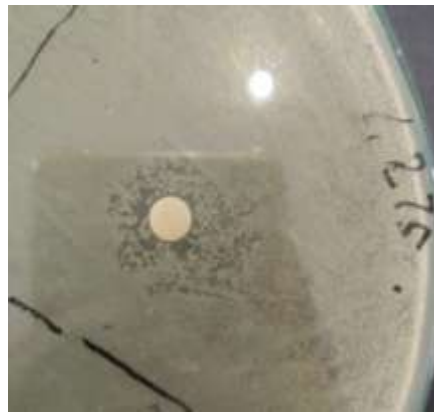
I



J



K



L

Keterangan :

A = Hasil penggorean keseluruhan

B = Hasil penggoresan keseluruhan

C = Kontrol negatif

D = Kontrol + ampicilin

E = Minyak biji 30 %

F = Minyak biji 15 %

G = Minyak biji 7,5 %

H = kontrol + tetrasiklin

I = Kontrol -

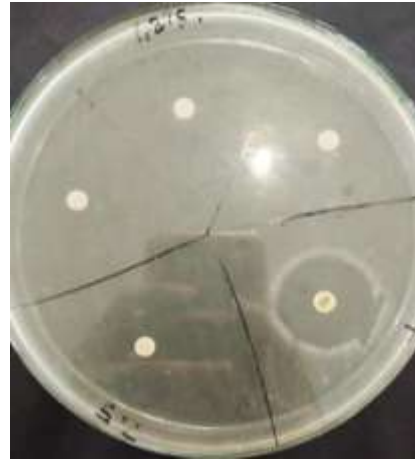
J = Minyak biji 7,5 %

K = Minyak biji 3,75 %

L = Minyak biji 1,88%

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

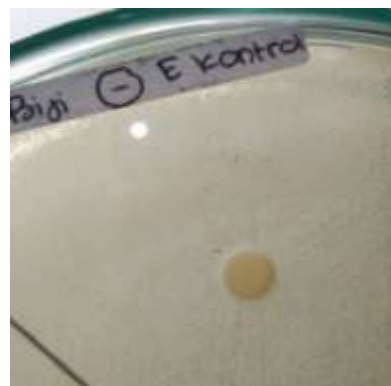
A



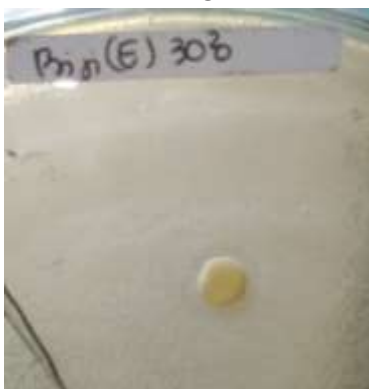
B



C



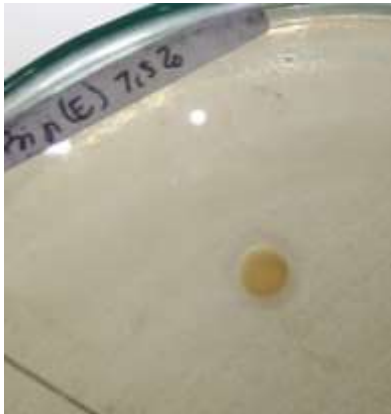
D



E



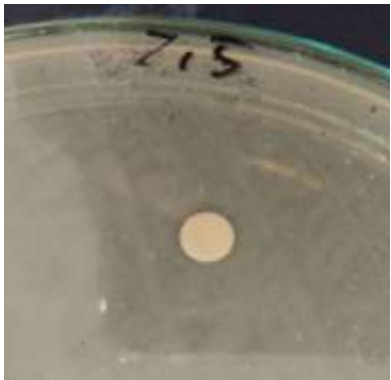
F



G



H



I



J



K

Keterangan :

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------|
| A = Hasil penggoresan keseluruhan | H = kontrol + tetrasiklin |
| B = Hasil penggoresan keseluruhan | I = Minyak biji 7,5 % |
| C = Kontrol negatif | J = Minyak biji 3,85 % |
| D = Kontrol + ampicilin | K = Minyak biji 1,88 % |
| E = Minyak biji 30 % | |
| F = Minyak biji 15 % | |
| G = Minyak biji 7,5 % | |