ABSTRAK

Tanaman pala (*Myristica fragrans)* dapat menghasilkan Minyak yang dapat yang dapat dimaanfaatkan sebagai sebagai antimikroba yang disebabkan oleh infeksi bakteri atau jamur. Minyak atsiri biji pala mengandung senyawa monoterpen flavonoid dan alkaloid yang berperan sebagai antibakteri. *Escherchia coli* menjadi bakteri yang paling banyak menimbulkan kasus infeksi pada masyarakat. Bakteri ini bertransmisi melalui jalur fekal-oral akibat rendahnya kualitas kebersihan individu. Tujuan untuk menguji aktivitas antibakteri sabun padat minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap bakteri *escherichia coli.* Pembuatan sabun menggunakan minyak nabati minyak zaitun, minyak jarak dan minyak kelapa lalu tambahkan variasi NaOH .F1 45,25g F2 40,45g F3 35,7g Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode cakram disk. Hasil dari penelitian ini formula 1 mendapatkan hasil 8,58mm masuk dalam kategori sedang formula 2 10,92mm masuk dalam kategori kuat dan formula 3 7,54mm masuk dalam kategori sedang.

Kata kunci: sabun padat, minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans*), *Escherichia coli,* uji antibakteri

ABSTRACT

Nutmeg plants *(Myristica fragrans*) can produce oil that can be used as an antimicrobial caused by bacterial or fungal infections. Nutmeg essential oil contains monoterpene flavonoids and alkaloids that act as antibacterials. Escherichia coli is the bacteria that causes the most cases of infection in the community. This bacteria is transmitted through the fecal-oral route due to the low quality of individual hygiene. The aim is to test the antibacterial activity of solid soap of nutmeg essential oil *(Myristica fragrans*) against Escherichia coli bacteria. Making soap using vegetable oil olive oil, castor oil and coconut oil then adding NaOH and nutmeg essential oil (*myristica fragrans*) as active substances. Antibacterial activity testing was carried out using the disc method. The results of this study formula 1 obtained a result of 8.58 formula 2 10.92 and formula 3 7.54 included in the strong category.

Keywords solid soap, nutmeg essential oil (Myristica fragrans*), Escherichia coli,*
antibacterial test

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hasil penelitian WHO menunjukkan bahwa terdapat beberapa tanaman obat yang berkhasiat sebagai antibakteri yang kuat bahkan melebihi kemampuan antibiotik. Salah satunya adalah tanaman pala. Negara Indonesia merupakan daerah tropis yang kaya raya akan jenis tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam bentuk dan kegunaannya salah satunya sebagai tanaman obat. Jenis tanaman yang termasuk dalam kelompok tanaman obat mencapai lebih dari 1000 jenis, salah satunya adalah tanaman pala (*Myristica fragrans*). Tanaman pala adalah milik asli Indonesia terutama di daerah Banda dan sekitarnya, serta Irian Jaya (Agaus & Agaus, 2019). Nilai ekonomis dari tanaman pala terletak pada bagian fuli dan bijinya. Biji pala segar terdapat sekitar 2,16% minyak atsiri dengan komposisi senyawa antara lain β-Pinena, αPinena, Safrol, Miristisin, α-Terpineol asetat, Eugenol, Limonena dan lain-lain. Penelitian tentang minyak atsiri saat ini banyak diarahkan untuk memanfaatkannya sebagai antimikroba penyakit yang disebabkan oleh bakteri atau jamur (Rastuti, 2015). Berdasarkan penelitian (Isromarina et al., 2020)menunjukkan bahwa biji pala mengandung golongan senyawa monoterpen, flavonoid dan alkaloid yang berperan sebagai antifungi atau antibakteri. Ekstrak etanol biji pala mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli.* Hal tersebut mendorong pembuatan sumber obat-obatan dari tanaman pala.

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, mempunyai ukuran panjang 2,0-6,0 µm dan lebar 1,1-1,5 µm berkapsul, tersusun tunggal, sebagian besar gerak pasif (Ayunani et al., 2019) *Escherchia coli* menjadi bakteri yang paling banyak menimbulkan kasus infeksi pada masyarakat. Bakteri ini bertransmisi melalui jalur fekal-oral akibat rendahnya kualitas kebersihan individu (Sinarsih dkk, 2016).

Sabun adalah kumpulan senyawa yang terdiri dari satu jenis asam amino atau lebih atau ekuivalennya dan alkali. Sabun dihasilkan dari reaksi antara minyak hewani, nabati atau lemak yang direbus bersama dengan sodium hidroksida. Sabun tidak hanya digunakan untuk menjaga kebersihan badan tetapi juga untuk kebersihan tangan. Mencuci tangan dengan sabun lebih efektif dan efisien jika dibandingkan dengan hanya menggunakan air. Produk sabun saat ini telah mengalami perkembangan yang sangat pesat, mulai dari bentuk, seperti sabun cair, padat, krim dan bahkan sabun dalam bentuk gel.

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, penulis tertarik ingin mengetahui efektivitas antibakteri minyak atsiri biji pala terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada sabun padat dengan metode difusi cakram disk.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, maka dapat disusun rumusan masalah yaitu apakah sabun minyak atsiri buah pala memiliki khasiat antibakteri yang baik terhadap bakteri *Eschericia coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian latar belakang, maka tujuan penelitan adalah untuk mengetahui aktivitas daya hambat sabun padat minyak atsiri biji pala *(Myristica fragrans)* terhadap bakteri *Escherchia coli.*

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

   Bermanfaat menambah wawasan serta pengetahuan peneliti dan dapat mendapat pengalaman secara langsung dalam melakukan penelitian.

2. Bagi Institusi

   Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi sumber referensi yang ada diperpustakaan sehingga menunjang proses pendidikan atau perkuliahan di Akademi Farmasi Yarsi Pontianak.

3. Bagi Masyarakat

   Menjadi sumber informasi bagi masyarakat tentang manfaat sabun dari minyak atsiri biji pala (*Myristica Fragrans*) memiliki aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia coli.*

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pala *(Myristica fragrans Houtt)*

2.2.1 Taksonomi Pala *(Myristica fragrans Houtt)*

Kingdom : Plantae

Filum : Tracheophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Magnoliales

Famili : Myristicaceae

Genus : Myristica

Spesies : *Myristica fragrans*

(Phulsagar et al, 2014).



Gambar 2.1 Pala
(Sumber: Fajar, 2015)

2.1.2 Morfologi Tanaman Pala

Tanaman pala adalah tanaman asli Indonesia terutama didaerah Banda dan sekitarnya, serta Irian Jaya. Sebagai obat, biji pala bersifat karminatif, stomakik, stimulant, spasmolitik dan antiemetik atau antimual (WEIL, 1996)Minyak pala juga digunakan dalam industri obat-obatan sebagai obat sakit perut, diare dan bronchitis. Minyak pala juga memiliki kemampuan

mematikan serangga *(insektidal)*, anti jamur *(fungisidal)*, dan antibakteri. Tanaman berbentuk pohon yang tingginya mencapai 20 meter dengan diameter batang 30-45 cm berbentuk bulat tegak dan bergetah merah muda. Daun tunggal, lonjong, panjang 8-10 cm, permukaan daun berwarna hijau mengilap. Bunga majemuk berbentuk malai diketiak daun, berwarna kuning. Buah bulat bundar menggantung, terbagi memanjang menjadi dua alur, dengan daging buah yang tebal, keras, banyak getah encer dan sepat. Biji hitam kecoklatan dan fuli yang berbentuk lonjong dengan warna kuning hingga merah (Hidayat dan Napitupulu, 2015). Buah pala terdiri atas daging buah (77,8%), fuli (4%), tempurung (5,1%), dan biji (13,1%) (Rismunandar, 1990)

Komponen pala yaitu *eugenol* banyak digunakan dalam ilmu kedokteran Gigi sebagai sealer saluran akar, dilaporkan *eugenol* menunjukan aktivitas antibakteri terhadap bakteri oral (Lai, 2001)

2.1.3 Manfaat Pala

Biji pala, digunakan untuk rempah-rempah dan tujuan pengobatan seperti karminatif, hipolipidemik, antitrombotik, agregasi antiplatelet, antijamur, afrodisiak, ansiogenik, anti-ulcerogenic, nematosidal, antitumor, anti-inflamasi, anti serangga (insektisidal), antibakteri, dan antioksidan (Suhirman dan Balittro., 2013).Minyak atsiri pala digunakan sebagai bahan baku dalam aromaterapi, penyedap masakan (saus), pengawet makanan, dan bahan campuran pada minuman ringan (Suhirman dan Balittro., 2013).

2.1.4 Kandungan Kimia Biji Pala

Komponen biji pala terdiri dari minyak atsiri, minyak lemak, protein, selulosa, pentosan, pati, resin, dan mineral-mineral (Abourashed, 2016) Komposisi kimia biji pala dan metode pengolahan sebagai berikut:

Tabel 1. Metabolit Primer Biji Pala

Komposisi kimia	Konsentrasi	Komponen utama (termasuk dalam komposisi kimia)	Metode pengolahan
Minyak lemak	40%	Asam myristic (~8%) dan Trimyristin triglyceride (~73%)	Ekspression (Pemerasan)
Karbohidrat	30%	Pati	Insoluble residue
Protein	6%	-	Insoluble residue

Tabel 2. Metabolit Sekunder Biji Pala

Komposisi kimia	Konsentrasi	Komponen utama (termasuk dalam komposisi kimia)	Metode pengolahan
Minyak atsiri	2-16%	Terpen (~88%), Fenilpropanoid (~12%)	Penyulingan uap
Senyawa Fenolik kecil	Bervariasi	Asam fenolik, lignin, diarylalkane, flavonoid	Ekstraksi
Resin dan pigmen	Bervariasi	Polyfenolik, polycatechins, tannin	Variabel

(Abourashed and El-Alfy, 2016; Abourashed and Khan, 2010; Daniel, 1994; Olaleye, Akinmoladun, Akindahunsi, 2006)

2.1.5 Minyak Atsiri Biji Pala

Minyak atsiri adalah cairan minyak beraroma aromatik yang diidentifikasi oleh bau yang kuat dan diproduksi oleh tanaman aromatik sebagai metabolit sekunder diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji, maupun dari bunga. Kandungan minyak atsiri tiap komponen pala yaitu pada biji 5-15%, fuli 4-17%, daun 1,7%, dan daging buah sekitar 6,25%. Minyak atsiri dapat diisolasi menggunakan sejumlah metode isolasi. Tanaman aromatik dan rempah- rempah umumnya digunakan dalam fitoterapi dan sebagian besar berhubungan dengan

aktivitas minyak atsiri yang bervariasi seperti antimikroba, antioksidan, antijamur, spasmolitik, karminatif, hepatoprotektif. Minyak atsiri biji pala memiliki kandungan senyawa 61-88% monoterpen hydrokarbon (alfa pinen, beta pinen, sabinen), asam monoterpen (5-15%) (Rodianawati et al., 2015). Selain itu minyak atsiri biji pala memiliki kandungan monoterpen hidrokarbon (alfa pinen, beta pinen, sabinen) yang lebih tinggi dari pada tanaman lain. (Ainane, 2018)

2.2 Sabun

Sabun adalah surfaktan yang di gunakan dengan air untuk mencuci dan membersihkan noda jika di terapkan pada suatu permukaan, air bersabun secara efektif mengikat partikel dalam suspense, mudah di bawa oleh air bersih (Khuzaimah). Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) tahun 1994 sabun mandi didefinisikan sebagai senyawa Natrium dengan asam lemak yang digunakan sebagai pembersih tubuh, berbentuk padat, berbusa dengan atau penambahan lain serta tidak menyebabkan iritasi pada kulit. Syarat mutu sabun mandi padat yang ditetapkan oleh SNI yaitu sabun padat memiliki kadar air maksimal 15%, jumlah alkali bebas maksimal 0,1% dan jumlah asam lemak bebas kuang dari 2,5%. Saat ini, sabun mandi antibakteri sangat diminati oleh masyarakat. Hal ini disebabkan karena dipercaya dapat membersihkan kulit, juga dapat mengobati dan atau mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Sukawaty et al., 2016)

Dalam proses pembuatan sabun dibutuhkan minyak sebagai bahan baku utama. Jenis minyak yang digunakan akan mempengaruhi karakteristik dari sabun yang dihasilkan (Widyasanti, 2017). Bahan baku minyak yang

digunakan dalam penelitian ini adalah minyak zaitun, minyak jarak, dan minyak kelapa.

2.2.1 Minyak Zaitun

Minyak zaitun memiliki manfaat sangat baik bagi kesehatan tubuh, kecantikkan wajah, rambut, kulit dan untuk mengatasi berbagai masalah gangguan penyakit. Kandungan asam oleat yang tinggi pada minyak zaitun sangat bermanfaat bagi kulit. Minyak zaitun yang sudah diolah menjadi sabun dianggap sebagai obat terbaik kulit kering karena membantu mengangkat sel kulit mati dan melembabkan kulit bersisik. Selain itu, minyak zaitun juga mampu mengurangi bekas luka dan mengencangkan kulit keriput (Widyasanti et al., 2017)

2.2.2 Minyak Jarak

Tanaman jarak pagar merupakan jenis tanaman perdu dengan tinggi 1-7 m bercabang tidak teratur. Tanaman ini memiliki batang berkayu, berbentuk silindris dan jika tergores mengeluarkan getah. Daun tanaman jarak pagar lebar dan berbentuk jantung dengan panjang 5 -15 cm. Bunga tanaman ini merupakan bunga majemuk berbentuk malai dan berwarna kuning kehijauan. Buah tanaman jarak berbentuk telur dengan diameter 2 – 4 cm dan memiliki 3 ruang dengan masing-masing ruang terdapat satu biji yang berbentuk bulat lonjong berwarna coklat kehitaman. Biji ini mengandung minyak dengan rendemen 30 – 50 % dan mengandung toksin sehingga tidak dapat dikonsumsi oleh manusia (M.Said dkk, 2013).

2.2.3 Minyak Kelapa

Minyak nabati yang diekstrak dari daging buah kelapa (spesies: *Cocos nucifera*). Berdasarkan teknik ekstraksinya, minyak kelapa bisa dikelompokkan atas tiga jenis: Minyak Kelapa Virgin (*Virgin Coconut Oil - VCO*), Minyak Kelapa Non-RBD, dan Minyak Kelapa RBD (*Refine, Bleach, Deodorize*) (Pada & Lemak, n.d.)

2.2.4 NaOH

Natrium hidroksida (NaOH) merupakan salah satu senyawa kimia yang bersifat alkali/basa dan berfungsi untuk menghilangkan atau membersihkan zat-zat dan kotoran-kotoran yang melekat pada serat sisa (Permatasari, 2014)

2.2.5 Aquadest

Aquadest merupakan air hasil dari destilasi atau penyulingan, dapat disebut juga air murni (H2O). Karena H2O hampir tidak mengandung mineral. Sedangkan air mineral merupakan pelarut yang universal. Air tersebut mudah menyerap atau melarutkan berbagai partikel yang ditemuinya dan dengan mudah menjadi terkontaminasi. (Alvi dkk, 2020)

2.3 Media

Media adalah kumpulan zat-zat organic yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat-syarat tertentu, oleh karena itu media pembiakkan harus mengandung cukup nutisi untuk pertumbuhan bakteri. Selain suhu dan pH yang harus sesuai juga perlu diperhatikan mengenai tekanan osmose dan strelitas (Soleha, 2015).

2.3.1 Media *Nutrient Broth* (NB)

Nutrient Broth (NB) adalah medium yang berbentuk cair dengan bahan dasar adalah ekstrak beef dan peptone. Konsentrasi *Nutrient Broth* (NB) berbentuk cair dengan susunan kimia sintetik. Fungsi kimia dari *Nutrient Broth* adalah sebagai medium umum. Medium *Nutrient Broth* berwarna coklat dengan konsistensi cair dimana medium ini berasal dari sintetik dan memiliki kegunaan sebagai medium untuk menumbuhkan bakteri (Rindani, Rere, 2013)

2.3.2 Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) adalah media terbaik untuk pemeriksaan sensibilitas tes (dengan metode Kirby-Bauer) pada bakteri *non-fastidious* (baik aerob dan anaerob fakultatif). Media ini ditemukan oleh Mueller dan Hinton pada tahun 1941, pada awalnya media Mueller Hinton digunakan untuk mengisolasi bakteri *Neisseria sp.* Pada uji sensibilitas tes bakteri *Streptococcus sp* dapat ditambahakan darah domba 5% dan nicotiname adenine dinucleotide. Oxoid Mueller-Hinton Agar memenuhi persyaratan WHO (Albantani, 2022).

2.4 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan flora normal yang berasal dari usus manusia, yang berperan dalam membantu pembusukan sisa-sisa makanan lewat saluran usus besar dan akan dikeluarkan dalam bentuk feses. Namun, E. coli juga memiliki dampak negatif yaitu dapat menyebabkan berbagai macam penyakit infeksi. Infeksi oleh bakteri *E. coli* dapat ditularkan melalui daging, buah dan sayuran yang terkontaminasi dengan feses dan secara tidak

langsung dapat ditularkan melalui kontak antar manusia (Winarni & Puspitasari Eka, 2013))

2.4.1 Taksonomi

Klasifikasi ilmiah bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Prokaryotae

Divisi : Gracilicutes

Kelas : Scotobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : *Escherichia coli* (Jawetz dkk, 2017)

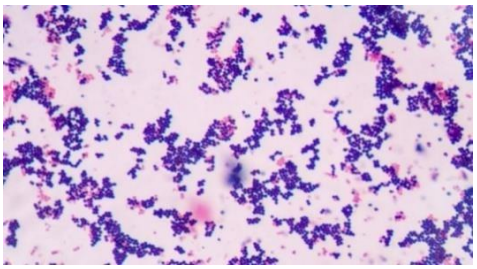


Gambar 2.2 Koloni Bakteri Escherichia coli
Sumber (Ayuningtyas, 2018)

2.4.2 Morfologi *Escherichia coli*

E. coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, tumbuh baik pada Agar (MCA) dengan bentuk koloni bulat dan cembung, bersifat memfermentasikan laktosa. E. coli memiliki panjang 2 μm, diameter 0,7 μm, lebar 0,4 – 0,7 μm, dan bersifat anaerob fakultatif. E. coli membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang

nyata (Jawetz dkk, 2017). E.coli merupakan bakteri yang dapat membentuk rantai, jarang membentuk spora, membentuk gas H2S pada beberapa strain yang mendapatkan plasmid dari Salmonella, akan tetapi pada umumnya tidak 10 dapat memproduksi gas H2S. E. coli memiliki struktur yang dikelilingi oleh membran sel, yang terdiri dari sitoplasma yang mengandung nucleoprotein. Diding sel yang berlapis kapsul menutupi membran Bakteri E.coli memiliki flagella dan pili yang menjulur dari permukaan (Budiyanto, 2014).



Gambar 2.3 Bakteri E. coli Pada Pewarnaan Gram
(Sumber: Bagus, 2020)

Ciri-ciri bakteri *E. coli* adalah memberikan hasil positif pada tes indol, lisin dekarboksilasi, memfermentasi manitol dan menghasilkan gas yang berasal dari glukosa (Jawetz dkk, 2017).

2.4.3 Patogenitas *Escherichia coli*

Patogenitas merupakan kemampuan suatu organisme untuk menimbulkan penyakit. *E. coli* dapat menimbulkan suatu gejala penyakit bila mampu masuk ke tubuh inangnya dan mampu beradaptasi serta bertahan di dalam tubuh manusia, kemudian menyerang sistem imun dan akhirnya menimbulkan penyakit. Mekanisme patogenesis ini dilakukan melalui beberapa tahapan seperti bakteri patogen lainnya. *E. coli* patogen umumnya bertanggung jawab atas tiga tipe infeksi pada manusia, yaitu

infeksi pada saluran pencernaan yang mengakibatkan diare, infeksi saluran kemih, dan meningitis neonatal. Infeksi pada saluran pencernaan yang sering dikaitkan dengan pangan disebabkan oleh kelompok diarrheagenic *E. coli*, seperti EHEC, ETEC, EIEC yang bertanggung jawab terhadap diare akut dan parah, sementara itu kelompok EPEC, EAEC, dan DAEC berasosiasi dengan diare sedang hingga kronis. Infeksi saluran kemih disebabkan oleh kelompok uropathogenic *E. coli* (UPEC) dan meningitis disebabkan oleh kelompok neonatal meningitis *E. coli* (NMEC). Keduanya merupakan jenis infeksi yang terjadi diluar saluran pencernaan atau dikenal dengan extracelluler pathogenic *E. coli* (ExPEC) (Winiati dkk, 2018).

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa organik yang dapat merusak dan menghambat bakteri tertentu baik secara alami maupun sintetik. Zat antibakteri adalah bahan yang digunakan untuk menghambat bakteri yang merugikan bagi manusia (Brooks dkk., 2015). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dapat dibagi menjadi empat cara, yaitu :

a. Penghambatan Terhadap Sintesis Dinding Sel

   Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku yaitu dinding sel yang mengelilingi secara lengkap sitoplasma membran sel. Dinding sel berisi polimer mucopeptida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang tinggi, polisakarida ini berisi gula amino N-acetylglucosamine dan asam acetylmuramic (hanya ditemui pada bakteri) (Jawetz dkk., 2014). Dinding ini mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri dari perbedaan tekanan

osmotik di dalam dan di luar sel yang tinggi. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan dan komponen yang lain. Sel yang aktif secara kontiyu mensintesis peptidoglikan yang baru dan menempatkannya pada posisi yang tepat pada amplop sel. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga menyebabkan pembentukan dinding sel yang lemah dan menyebabkan pemecahan osmotik (Talaro, 2013).

b. Penghambatan Terhadap Fungsi Membran Sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif, memiliki fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian (Jawetz dkk., 2014).

c. Penghambatan Terhadap Sintesis Protein (Penghambatan Translasi Dan Transkripsi Material Genetik)

DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Kebanyakan obat menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom RNA. Mekanisme kerjanya antara lain dengan menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan rantai peptida (Pelezar, ddk 2013.)

d. Penghambatan Terhadap Sintesis Asam Nukleat

Pembentukan DNA dan RNA bakteri merupakan perjalanan yang panjang dan membutuhkan enzim di beberapa proses. Pembentukan DNA dan RNA sangat penting dan berefek dalam metabolisme protein. Antibakteri menginteferensi sintesis asam nukleat dengan menghambat sintesis nukleitida, menghambat replikasi, atau menghentikan transkripsi. Obat berikatan sangat kuat pada enzim DNA Dependent RNA Polymerase bakteri, sehingga menghambat sintesis RNA bakteri ((Talaro, 2018); Jawetz dkk., 2013).

Secara umum, metode uji antibakteri dibagi sebagai berikut :

a) Metode dilusi

Metode dilusi terdiri dari 2 jenis media yaitu media cair dan padat.

1) Uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi media padat terlebih dahulu dilakukan pengenceran agen antibakteri dengan konsentrasi yang menurun. Kemudian masing-masing media yang mengandung konsentrasi agen antimikroba diinokulasikan bakteri uji dan diinkubasi. Metode dilusi padat membutuhkan waktu yang relatif lama dan penggunaannya dibatasi pada kadar tertentu (Brooks dkk., 2015).

2) Uji daya hambat dengan metode dilusi cair memiliki prinsip yaitu untuk melakukan pengukuran Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimun (KBM) suatu agen antibakteri. Larutan antibakteri yang telah diinokulasi dengan bakteri, namun tetap jernih menandakan sebagai kadar hambat

minimum suatu agen antibakteri. Kadar bunuh minimum ditetapkan setelah kadar hambat minimum dilakukan kultur. Kadar bunuh minimum ditetapkan jika pada media tersebut tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri setelah dilakukan inkubasi tanpa agen antibakteri (Pratiwi, 2014).

b) Metode Difusi

Metode difusi digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroba uji yaitu:

1) Cara Cakram (*Disc*)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan mikroba. Davis and (Rahmawati, 2019) mengklasifikasikan zona hambat pada tabel berikut :

Tabel 3. Klasifikasikan Zona Hambat

Diameter Zona Bening (mm)	Kategori
≥20	Sangat Kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
≤5	Lemah

Metode cakram kertas memiliki kelebihan, yaitu mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah, sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium (Bonang, 1992; Pelczar, 1988). Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai, maka hasil dari metode cakram kertas sulit untuk diintepretasikan (Bonang, 1992).

2) Cara Parit (Ditch)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit, interpretasi sama dengan cara *Kirby Bauer* (Bonang, 1992)

3) Cara sumuran (Hole/Cup)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemdian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan

mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang.

c) Metode Difusi dan Dilusi

E-test atau biasa disebut juga dengan epsilometer adalah metode tes dimana huruf "E" dalam nana E-test menunjukkan simbol epsilon (E). E-test merupaka metode kuantitatif untuk uji antimikroba. Metode ini termasuk gabungan antara metode dilusi dari antibakteri dan metode difusi antibakteri kedalam media. Metode ini dilakukan dengan menggunakan *strip plastic* yang sudah mengandung agen antibakteri dengan konsentrasi terendah sampai konsentrasi tertinggi diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Hambatan pertumbuhan mikroorganisme bisa diamati dengan adanya area jernih di sekitar strip tersebut.

E-test dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) untuk bakteri seperti *Streptococcus pneumoniae, Streptococcus B-hemolitik, Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus sp* dan bakteri *anaerob*. Dapat juga digunakan untuk bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas sp Burkholderia pseudomallei*(Prayoga, 2013)

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian adalah autoclave, blue tips, cawan petri, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, jarum ose, kertas cakram, labu erlenmeyer, laminar air flow, pembakar bunsen, mikropet, rak tabung reaksi, refrigerator, tabung reaksi, timbangan analitik vortex.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah minyak atsiri biji pala dari minyak zaitun, minyak jarak, minyak kelapa, NaOH, bakteri *Escherichia coli*, media (MHA) *Medium Muller Hinton*, Nacl 0,9% aqua pro injeksi, alkohol 70%.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Adapun waktu penelitian ini akan dilakukan selama 2 bulan yaitu pada bulan November-Desember 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Yarsi Pontianak.

3.4. Pembuatan Sabun

Tabel 4. Formulasi Sediaan Sabut Padat minyak atsiri biji pala

Uraian bahan	Formulasi I	Formulasi II	Formulasi III	Kegunaan
Minyak Zaitun	120 g	120 g	120 g	Pelembab Kulit
Minyak Jarak	30 g	30 g	30 g	Pelembut Kulit
Minyak Kelapa	150 g	150 g	150 g	Penghasil Busa
NaOH	45,21 g	40,45 g	35,7 g	Pembentuk Sabun
Aquadest	114 ml	114 ml	114 ml	Pelarut
Minyak Astiri Biji Pala	5 ml	5 ml	5 ml	Zat Aktif

Keterangan :

Formulasi 1 : Sabun Padat Minyak Atsiri Biji Pala dengan konsentrasi NaOH 45,21 g (superfat 15%)

Formulasi 2 : Sabun Padat Minyak Atsiri Biji Pala dengan konsentrasi NaOH 40,45 g (superfat 13%)

Formulasi 3 : Sabun Padat Minyak Atsiri Biji Pala dengan konsentrasi NaOH 35,7 g (superfat 10%)

Pembuatan sabun padat minyak atsiri biji pala dilakukan dengan cara mencampurkan minyak jarak, minyak kelapa dan minyak zaitun ke dalam wadah, selanjutnya NaOH dilarutkan ke dalam beaker glass. *Beaker* yang berisi Aquades, kemudian di diamkan pada ruang. NaOH yang telah dilarut dan dingin dalam campuran minyak, aduk dengan *hand blender* hingga tercampur rata. Pengadukan menggunakan *hand bleander* mempercepat proses penyabunan jika pembuatan sabun sebelum terbentuk trace merupakan akhir dari proses pengadukan saat kondisi sabun sudah terbentuk, dengan ditandai campuran yang sudah mulai mengental. Kemudian tambahkan minyak biji pala sebagai zat aktif aduk hingga tercampur rata. Kemudian masukan dalam cetakan 2 minggu hingga sabun menjadi padat sempurna, untuk pengujian kualitas sabun.

3.5 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dicuci dengan deterjen lalu dibilas dengan aquadest. Alat-ala gelas dibungkus kertas perkamen disterilkan dalam oven pada suhu 180^0C selama 2 jam. Ose disterilkan dengan cara dipijarkan dengan nyala api.

3.5.1 Pembuatan Media

1) **Media NB (*Nutrient Broth*)**

   Media NB ditimbang sebanyak 0.8 gram kemudian ditambahkan aquadest 100 ml. Media dipanaskan di atas hot plate pada suhu 200ºC kemudian dihomogenkan dengan menggunakan magnetik strier hingga media berwarna kuning jernih lalu disterilkan dengan autoclave pada suhu 121ºC dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Triatmoko dkk, 2019).

2) **Media MHA *(Muller Hinton Agar)***

   MHA *(Mueller Hinton Agar)* steril dipanaskan pada suhu 40^0C-45^0C tuangkan suspensi bakteri uji secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 1 ml, selanjutnya dituangkan media MHA sebanyak 12-15 ml diatasnya, homogenkan dan biarkan memadat

3.5.2 Pembuatan sampel uji

Dilakukan pengenceran sabut padat minyak atsiri biji pala dengan Aqua pro injeksi dengan perbandingan 1:1 ditimbang sebanyak 3 gram sabun padat minyak atsiri biji pala dilarutkan debgan 3 ml aqua pro injeksi diaduk hingga tercampur rata.

3.5.3 Penyiapan Bakteri Uji

Prosedur penyiapan bakteri pada penelitian ini yaitu dilakukan Peremajaan Bakteri. Bakteri yang akan digunakan terlebih dahulu dibiarkan sebelum digunakan untuk pengujian. Jarum ose yang digunakan terlebih dahulu dipanaskan dengan lampu spiritus, kemudian didinginkan selama 30 detik. Kemudian kultur murni bakteri *Eschericia coli* dengan menggunakan

jarum ose, diinokulasikan dalammedia NB dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37ºC selama 24 jam (Misna dan Husnul,2016).

3.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Cakram Disc

Setelah diinkubasi, diambil suspensi bakteri uji sebanyak 1 ml dimasukan kedalam cawan petri yang berisi media MHA yang telah padat setelah itu diratakan dengan batang L seluruh permukaan diletakan kertas cakram yang sudah dicelupkan larutan uji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati jika adanya pertumbuhan bakteri uji dan diukur jika adanya daerah hambatan dengan jangka sorong

3.5.5 Analisis Data

Hasil penelitian yang didapat dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel (Armansyah, 2022)

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa seluruh formula sabut padat minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans*) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Formula 2 menunjukkan daya hambat paling tinggi dengan diameter zona hambat sebesar 10,92 mm, diikuti oleh Formula 1 (8,58 mm) dan Formula 3 (7,54 mm). Hal ini menunjukkan bahwa Formula 2 merupakan formula yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga berpotensi lebih unggul sebagai agen antibakteri berbasis minyak atsiri biji pala.

5.2 Saran

Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menunjang penelitian yang telah dilakukan, diantaranya melakukan penelitian daya hambat terhadap sabun padat minyak atsiri biji pala menggunakan metode dilusi dan dilakukan pengujian daya hambat menggunakan bakteri lain.

DAFTAR PUSTAKA

Abourashed, E. A. (2016). *Chemical diversity and pharmacological significance of the secondary metabolites of nutmeg (Myristica fragrans Houtt. volume 15*, 1035–1056.

Agaus, L. R., & Agaus, R. V. (2019). Manfaat Kesehatan Tanaman Pala (Myristica fragrans). *Medula*, *6*(3), 662–666.

Agustin, E. F., & Hendrawati, N. (2023). Pengaruh Variasi Natrium Hidroksida (Naoh) Terhadap Pembuatan Sabun Mandi Padat Sari Mentimun. *DistilaT: Jurnal Teknologi Separasi*, *8*(4), 850–858. https://doi.org/10.33795/distilat.v8i4.471

Ainane, T. (2018). Chemical Composition and Anti-Insecticidal Activity of the Essential Oils of Thymus of Morocco: Thymus capitates, Thymus Bleicherianus and Thymus Satureioides. *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, *6*(3), 1–6. https://doi.org/10.19080/omcij.2018.06.555687

Anggriani, M., Rahim, E. A., & Syamsuddin, S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Polieugenol Berat Molekul Tinggi Dengan Penambahan Ekstrak Daun Pala (Myristica fragrans Houtt). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, *4*(2), 190–200. https://doi.org/10.22487/kovalen.2018.v4.i2.10224

Ayunani, T. D., Hastuti, I. T., Ansory, H. M., & Nilawati, A. (2019). Pemisahan Senyawa 1,4-terpineol dan Safrol dari Minyak Atsiri Biji Pala (Myristica Fragrans Houtt) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Shigella dysenteriae. *Jurnal Farmasi Indonesia*, *15*(1), 88–100. https://doi.org/10.31001/jfi.v15i1.357

Ayuningtyas, H. (2018). Tak Kenal Maka Tak Sayang: Bakteri E. coli. *Panganpedia*. https://panganpedia.com/ilmu-pangan/istilah-pangan/bakteri-e-coli-escherichia-coli/?utm_source

Bonang. (1992). *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*. Buku kedokteran EGC.

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.

Green, James, Sunarni, slamet rianto. (2005). *Terapi herbal : pengobatan alami mengatasi bakteri / James Green*. Prestasi Pustakaraya.

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

Lai, C.-S. (2001). *Antimicrobial activity of four root canal sealers against endodontic pathogens*. *5*, 236–239. https://link.springer.com/article/10.1007/s00784-001-0135-2

Mastra, N. (2018). Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan Staphylococcus Aureus Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Biduri Secara In Vitro. *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, *6*(1), 39–45. https://doi.org/10.33992/m.v6i1.227

Pada, S., & Lemak, P. (n.d.). *1* . *2* , *3* *. 1–10.

Pelzar. (n.d.). *Microbiology:Application Based Approach*. Tata McGraw-Hill Education.

Prayoga, E. (2013). *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper Betle L.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus*.

Rahmawati, D. (2019). *Mikrobiologi farmasi : dasar-dasar mikrobiologi untuk mahasiswa farmasi*. Pustaka Baru Press.

Rastuti, U. (2015). Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Pala Dari Banyumas Terhadap Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli Serta Identifikasi Senyawa Penyusunnya. *Etika Jurnalisme Pada Koran Kuning : Sebuah Studi Mengenai Koran Lampu Hijau*, *16*(2), 39–55.

Rindani, Rere, R. (2013). *media NA, NB, PDA*. blob:https://web.whatsapp.com/36be2b87-2d9a-4d59-9304-67a5cf8db483

Rismunandar. (1990). *Budidaya dan tata niaga pala*. Penebar Swadaya.

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. *Pameri: Pattimura Medical Review*, *4*(1), 45–52. https://doi.org/10.30598/pamerivol4issue1page36-43

Sukawaty, Y., Warnida, H., & Artha, A. V. (2016). Formulasi Sediaan Sabun Mandi Padat Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine Bulbosa (Mill .) Urb .) Formulation Of Bar Soap With Bawang Tiwai (Eleutherine Bulbosa (Mill .) Urb .) Bulbs Ethanol Extract. *Media Farmasi*, *13*(1), 14–22.

Talaro.(2018) .*Foundation in Microbiology*. https://www.yumpu.com/en/document/read/67434786/pdfslidenet-foundations-in-microbiology-microbiology-foundations-in-tenth-edition-chess-talaro

WEIL, A. T. (1996). *The use of nutmeg as a psychotropic agent*. 15–23. https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/bulletin/bulletin_1966-01-01_4_page003.html

Widyasanti, A., Qurratu'ain, Y., & Nurjanah, S. (2017). Pembuatan Sabun Mandi Cair Berbasis Minyak Kelapa Murni (VCO) dengan Penambahan Minyak Biji Kelor (Moringa oleifera Lam). *Chimica et Natura Acta*, *5*(2), 77. https://doi.org/10.24198/cna.v5.n2.14691

Winarni, F., & Puspitasari Eka, D. (2013). Peran Pemerintah Dalam Penanggulangan Pencemaran Air. *Mimbar Hukum*, *25*, 219–230.