

## ANALISIS SENYAWA MINYAK ATSIRI BIJI PALA SECARA GC-MS DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Hery Muhamad Ansory<sup>1\*</sup>, Prietta Khania Kusuma Putri<sup>2</sup>, Nur 'Aini Hidayah<sup>2</sup> dan Anita Nilawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta  
Jl. Letjend Sutoyo Mojosongo, Surakarta.

<sup>2</sup>Jurusan Anafarma Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta  
Jl. Letjend Sutoyo Mojosongo, Surakarta.

\*Email: hery.ansory89@gmail.com

### Abstrak

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 destilasi air dan didapatkan rendemen sebanyak 0,301 %. 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  $\gamma$ -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, GC-MS, senyawa.

### 1. PENDAHULUAN

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. 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 (Rahmi, 2014).

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. Augusta (2000) mengisolasi minyak biji pala segar memiliki 2,16% minyak atsiri dengan komposisi senyawa antara lain  $\alpha$ -Pinea, Kamfena,  $\beta$ -Pinea, Limonena, Safrol, Eugenol, Miristisin dan lain-lain. Minyak atsiri biji pala dapat diisolasi melalui proses distilasi. Mengacu pada Rastuti (2013) 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. *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi saluran kencing yang merupakan infeksi terbanyak, gastroenteritis, meningitis pada bayi, peritonitis, infeksi luka, kolesistitis, dan syok bakteremia karena masuknya organisme ke dalam darah dari uretra (Nataro, 1986).

Antibiotik sintetis atau bahan kimia biasanya digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati penyakit infeksi. Resistensi bakteri menyebabkan banyak peneliti melakukan penelitian untuk mendapatkan antibiotik alami yang dapat menghambat ataupun membunuh suatu mikroorganisme tanpa membuat mikroorganisme tersebut resisten (Wonorahardjo, 2016). 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 *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode dilusi dan difusi.

## 2. METODOLOGI

### 2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel biji pala, aquadestila, minyak goreng, natrium sulfat-anhidrat, n-heksana (Merck) pa, Aseton (Merck) pa, media MHA pa, media BHI pa, Media EA pa, Media VJA pa, Media uji biokimia, Standar Mc Farlan 0.5, Tetracilin HCl, biakan murni bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### 2.2. Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah buah pala dari tanaman pala di daerah Bergas, Semarang.

### 2.3. Preparasi sampel

Sampel buah pala dipisahkan menjadi 3 bagian, yaitu daging buah, biji dan kulit (fuli). kemudian dikering anginkan sampai kering keras. Biji yang sudah kering dihaluskan.

### 2.4. Isolasi minyak atsiri

Sampel hasil preparasi didistilasi dengan metode distilasi rebus.

### 2.5. Identifikasi minyak atsiri

Minyak atsiri hasil distilasi dianalisis menggunakan GC-MS (Shimadzu QP 2010).

### 2.6. Pengujian aktivitas antibakteri

Memulai pengujian antibakteri melalui sterilisasi alat, menyiapkan media pertumbuhan bakteri dan mengembangbiakkan bakteri.

#### 2.6.1. Uji dilusi

Minyak biji pala diuji aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi dengan konsentrasi awal 60; 30; 15; 7,5; 3,75; dan 1,875 % dengan pelarut aseton.

Pengamatan dilakukan dengan mengamati 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 melakukan pengamatan dan menentukan KHM dan KBM.

#### 2.6.2. Uji difusi

Uji difusi dilakukan dengan metode kertas cakram. Menanam cakram yang sudah direndam dalam minyak atsiri dalam beberapa konsentrasi kemudian menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Hasil Isolasi Minyak Atsiri Biji Pala

Hasil isolasi minyak atsiri biji pala yang diperoleh dengan randemen sebesar 0,3%. Hal ini bisa dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil isolasi minyak biji pala**

Berat Basah	Berat Kering	Volume Minyak	Berat Minyak	Randemen
80 gram	72,3577 gram	2,6 mL	2,407 gram	0,301%

Pada tabel 1 secara organoleptis hasil minyak atsiri biji pala dibandingkan dengan SNI. Hasil isolasi minyak memiliki kualitas yang memenuhi SNI. Hasil perbandingan minyak pada biji pala dan fuli pala dapat dilihat pada tabel 2.

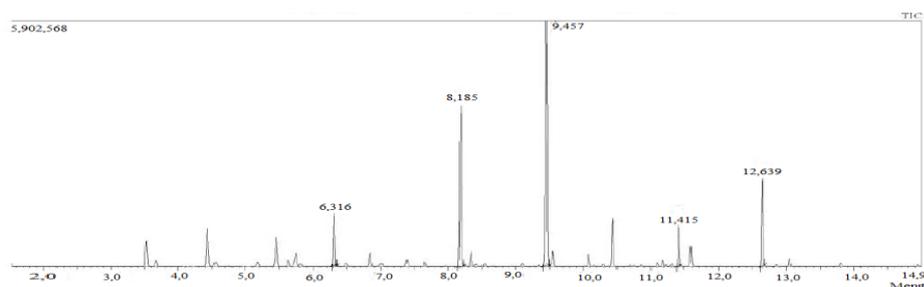
**Tabel 2. Perbandingan minyak biji dan fuli pala**

Pembanding	biji pala	fuli pala
volume minyak	2,6 mL	6,6 mL
berat minyak	2,407 g	7,124 g
Randemen	0,301%	3,56%

Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa fuli pala menghasilkan volume, berat dan rendemen minyak yang lebih besar daripada minyak pada biji pala.

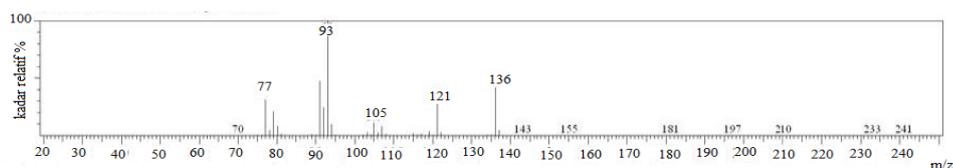
### 3.2. Hasil Analisis GC-MS Minyak Atsiri Biji Pala

Analisis kandungan senyawa minyak atsiri biji pala dilakukan pada senyawa yang dominan dalam minyak biji pala. Puncak tertinggi yang dihasilkan yaitu pada waktu retensi 6,316; 8,185; 9,457; 11,415 dan 12,639. Setiap senyawa mempunyai spektrum massa yang berbeda-beda dan dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1. Kromatogram minyak atsiri biji pala**

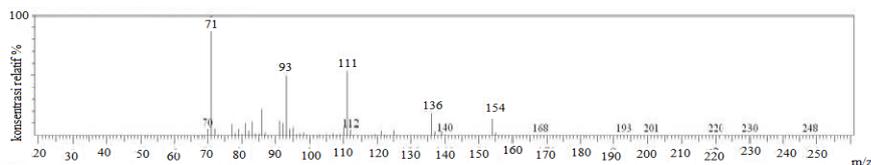
Senyawa pertama dengan waktu retensi 6,316 menit mempunyai spektrum massa dapat dilihat pada Gambar 2 sebagai berikut:



**Gambar 2. Spektrum massa tr 6,316 menit**

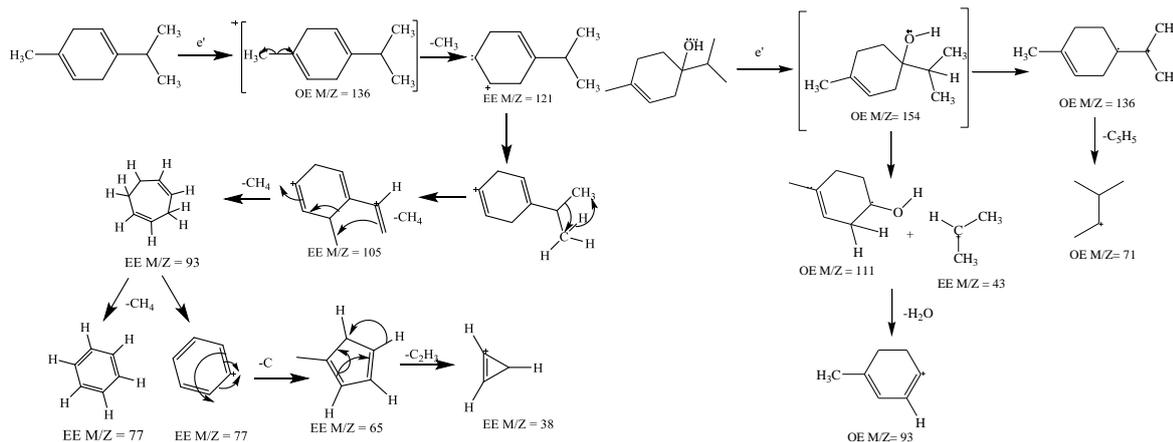
Pada gambar 2 spektra MS, terlihat massa molekul senyawa adalah 136 dan diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul  $C_{10}H_{16}$ . Senyawa  $C_{10}H_{16}$  mempunyai DBE = 3, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 siklik yang mempunyai 2 ikatan rangkap 2.

Senyawa kedua yaitu senyawa pada waktu retensi 8,185 menit dapat dilihat pada gambar 3.



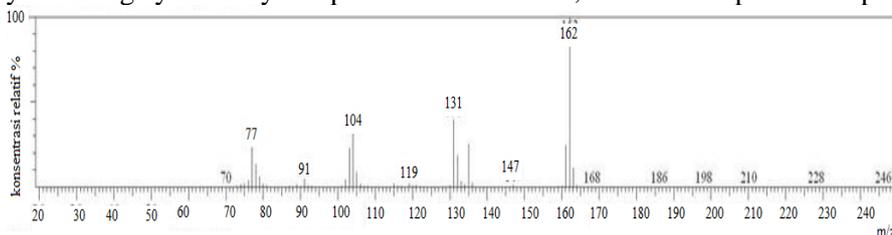
**Gambar 3. Spektrum massa tr 8,185 menit**

Pada gambar 3 spektrum MS terlihat massa molekul senyawa adalah 154 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul  $C_{10}H_{18}O$  3-cyclohexene-1-ol,4-methyl-1-(1-methylethyl). Senyawa  $C_{10}H_{18}O$  mempunyai nilai DBE = 2, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 siklik yang mempunyai 1 ikatan rangkap 2.



**Gambar 4. Pola Fragmen senyawa gamma-terpinene (kiri) 3-cyclohexene-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl) (kanan)**

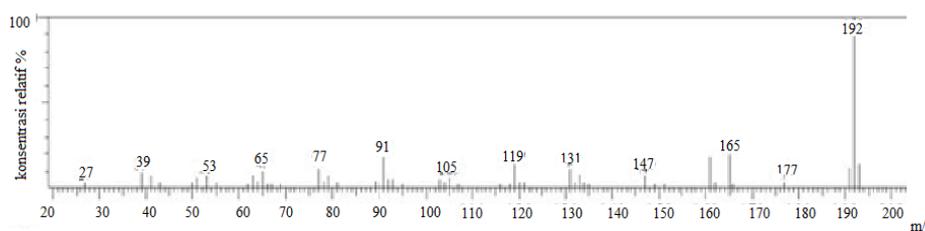
Senyawa ketiga yaitu senyawa pada waktu retensi 9,457 menit dapat dilihat pada gambar 5.



**Gambar 5. Spektrum massa tr 9,457 menit**

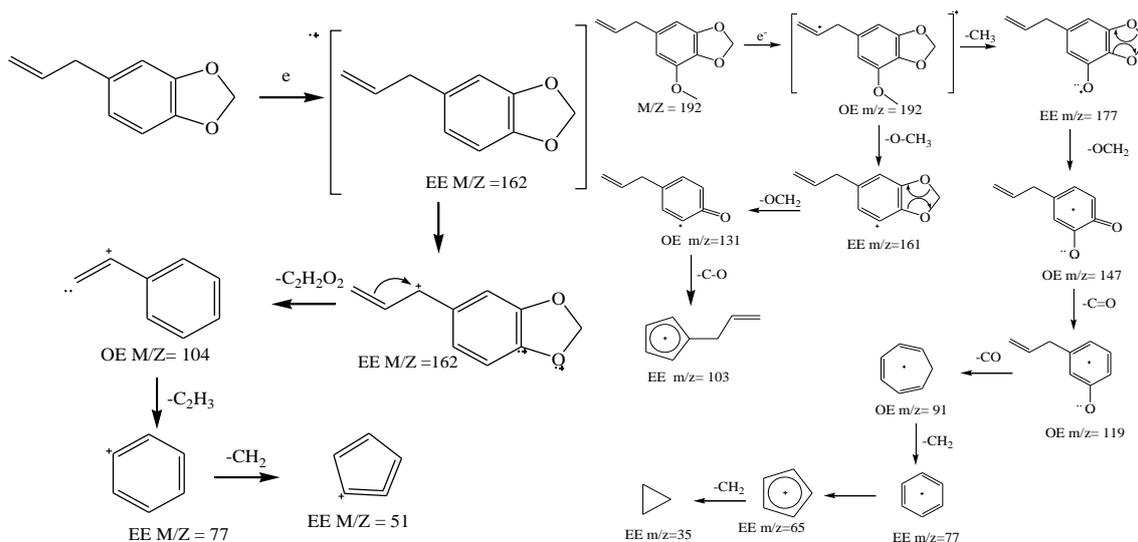
Dari gambar 5 spektrum MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 162 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul  $C_{10}H_{10}O_2$ , senyawa  $C_{10}H_{10}O_2$  mempunyai nilai DBE = 6, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 siklik aromatis yang mempunyai 1 ikatan rangkap 2.

Senyawa keempat pada waktu retensi 11,415 menit dapat dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6. Spektrum massa tr 11,415 menit**

Dari gambar 6 spektrum 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. 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.



Gambar 7. Fragmentasi senyawa safrol (kiri) senyawa miristisin (Kanan) (Ansory, 2014)

### 3.3. Hasil Uji Antibakteri

#### 3.3.1. Uji dilusi

Hasil uji dilusi yang dapat dilihat pada tabel 3 dan 4, menunjukkan bahwa aktifitas antibakteri minyak atsiri biji pala pada bakteri *Staphylococcus aureus* tidak dapat dilakukan menggunakan pengujian dilusi karena pada saat pencampuran minyak atsiri dan bakteri larutan di dalam tabung menjadi keruh.

Tabel 3. Hasil Uji dilusi minyak atsiri biji pala terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi minyak atsiri (%)	Hasil tabung	Hasil penggoresan tabung bakteri <i>S.aureus</i> pada media		
		1	2	3
kontrol +	Keruh	+	+	+
60	Bening	-	-	-
30	Keruh	-	-	-
15	Keruh	-	-	-
7.5	Keruh	-	-	-
3.75	Keruh	-	-	-
1.87	Keruh	-	-	-
kontrol -	Bening	-	-	-

Tabel 3 menunjukkan bahwa KHM tidak dapat ditentukan karena bakteri tidak tumbuh hingga konsentrasi terkecil dari hasil penggoresan.

Tabel 4 Hasil Uji dilusi minyak atsiri biji pala terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi minyak atsiri (%)	Hasil tabung	Hasil penggoresan tabung bakteri <i>E. coli</i> pada media		
		1	2	3
kontrol +	Keruh	+	+	+
60	Bening	-	-	-
30	Keruh	-	-	-
15	Keruh	-	-	-
7.5	Keruh	-	-	-
3.75	Keruh	-	-	-
1.87	Keruh	-	-	-
kontrol -	Bening	-	-	-

Keterangan :

(+) : Terdapat pertumbuhan bakteri  
Kontrol + : berisi suspensi bakteri

(-) : Tidak terdapat pertumbuhan bakteri  
Kontrol - : berisi minyak atsiri biji pala

Tabel 4 diatas menunjukkan bahwa aktifitas antibakteri minyak atsiri biji pala pada bakteri *E. coli* tidak dapat dilakukan menggunakan pengujian dilusi karena pada saat pencampuran minyak atsiri dan bakteri larutan di dalam tabung menjadi keruh. Hal ini menunjukkan bahwa KHM tidak dapat ditentukan karena bakteri tidak tumbuh hingga konsentrasi terkecil dari hasil penggoresan.

### Uji Difusi

Hasil pengujian efektivitas antibakteri minyak atsiri biji pala terhadap *E. coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi ditunjukkan dalam tabel 5 berikut.

**Tabel 5. Hasil Difusi *E.coli***

<i>Escherichia coli</i>	1 (mm)	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

Pada tabel 5 memperlihatkan pengujian aktivitas antibakteri biji pala menunjukkan bahwa konsentrasi terendah 1,88% dan dapat menghambat *Escherichia coli* dan mempunyai diameter zona hambat sebesar 4,65mm. Respon hambat ini tergolong kecil, karena menurut Pratiwi (2008) penggolongan antibakteri dengan diameter zona hambat 1-5mm termasuk kecil. Hasil pengujian antibakteri berkisar pada range tersebut sehingga minyak atsiri biji pala mempunyai respon hambat kecil terhadap *Escherichia coli*.

Pengujian aktivitas antibakteri biji pala menunjukkan bahwa konsentrasi terendah 15% dan dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dan mempunyai diameter zona hambat sebesar 11,8mm  $\pm$  1,587. Respon hambat ini tergolong kuat, karena menurut Pratiwi (2008) penggolongan antibakteri dengan diameter zona hambat 11-20mm termasuk kuat. Hasil pengujian antibakteri berkisar pada range tersebut sehingga minyak atsiri biji pala mempunyai respon hambat kuat terhadap *Staphylococcus aureus*.

**Tabel 6. Hasil difusi *S. aureus***

<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (mm)	2 (mm)	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	1,848
15%	10	12,4	13	11,8	1,587
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 snyawa-senyawa tertentu. 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 (Pelczar, 1986). Namun, miristisin dapat menghambat agen inflamasi.  $\gamma$ -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 kedalam sel.

#### **4. KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian dapat ditarik kesimpulan biji pala mengandung minyak atsiri dengan 5 senyawa komponen utama yaitu  $\gamma$ -terpinene, 3-cyclohexene-1-ol,4-methyl-1-(1-methylethyl), safrol, miristisin, metil ester. Senyawa yang mempunyai kadar paling tinggi yaitu Safrol. Minyak pala memiliki aktivitas antibakteri dan mempunyai diameter zona hambat kategori lemah untuk bakteri *E. coli* dan termasuk kategori kuat untuk bakteri *S. aureus*.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada DPRM Kemenristek DIKTI melalui LPPM Universitas Setia Budi Surakarta yang telah membiayai penelitian ini.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Agusta, Andria, (2000), *Minyak Atsiri Tumbuhan Tapioka Indonesia*. ITB Press. Bandung.
- Nataro, J., & Kapker, J, (1998), Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology*, 11,142-201.
- 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.
- 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*.
- Wonorahardjo, Surjani, (2016), *Metode-Metode Pemisahan Kimia Sebuah Pengantar*. PT Indeks. Jakarta.