

Efektifitas Minyak Pala Fakfak (*Myristica argentea* Warb) terhadap Mikroba Patogen dengan Metode *Total Plate Count* (TPC)

Andi Fitra Suloi

Agroindustri, Politeknik Negeri Fakfak, Papua Barat, Indonesia

Nurmiati

Agroindustri, Politeknik Negeri Fakfak, Papua Barat, Indonesia

Nur Faida

Mahasiswa D3-Agroindustri, Politeknik Negeri Fakfak, Papua Barat, Indonesia

Korespondensi penulis: fitra@polinef.id

Abstract. Beef has a relatively short shelf life because it has a high protein content, a pH value close to natural, and a relatively high water activity, making it a medium for the growth of pathogenic microbes. Nutmeg oil has secondary metabolite compounds that inhibit the growth of microorganisms. This research was conducted to measure the effectiveness of Fakfak nutmeg oil in inhibiting the growth of pathogenic bacteria in meat. The research was carried out by distilling crushed nutmeg seeds to produce nutmeg oil and then performing the total plate count test. The research results showed that nutmeg oil had the highest effectiveness in inhibiting the growth of pathogenic microbes in meat at a concentration of 15.

Keywords: nutmeg oil, effectiveness, total plate count

Abstrak. Daging sapi memiliki umur simpan yang relatif singkat karena memiliki kandungan protein tinggi, nilai pH yang mendekati netral serta aktivitas air yang relatif tinggi sehingga menjadi media pertumbuhan mikroba patogen. Minyak biji pala memiliki senyawa metabolit sekunder dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Penelitian ini dilakukan untuk mengukur efektifitas minyak biji pala Fakfak dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada daging. Penelitian dilakukan dengan menyuling biji pala yang telah dihancurkan sehingga menghasilkan minyak biji pala, selanjutnya dilakukan uji *Total Plate Count*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak biji pala memiliki efektifitas terbaik dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen pada daging pada konsentrasi 15%.

Kata kunci: minyak biji pala, efektifitas, *Total Plate Count*

LATAR BELAKANG

Salah satu bahan pangan penghasil protein hewani adalah daging sapi. Daging sapi mengandung komponen kimia seperti lemak, karbohidrat, vitamin dan protein. Komponen kimia tertinggi yang terdapat pada daging sapi adalah protein sebesar 18,9%

*Corresponding author, e-mail address: fitra@polinef.id

(Ningrum, 2018). Hal itulah yang menyebabkan daging sapi memiliki umur simpan yang relatif lebih singkat, dan nilai pH yang mendekati netral serta aktivitas air yang relatif tinggi sehingga menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme patogen (Nathania *et al.*, 2022). *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* merupakan jenis bakteri patogen yang sering kali dijumpai pada daging sapi (Yemis & Candogan). Adanya resiko tinggi terhadap kontaminasi bakteri sehingga pada daging segingga diperlukan adanya penanganan yang baik untuk memperpanjang masa simpan daging (Zahra, 2012).

Biji pala merupakan salah satu komoditi unggulan kota Fakfak yang sering dijadikan sebagai bumbu dapur. Selain itu, biji pala juga digunakan sebagai bahan pembuatan minyak pala yang digunakan sebagai aroma terapi. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa minyak pala mengandung trimiristin yang merupakan metabolit sekunder penghambat pertumbuhan bakteri (Suloi, 2021). Senyawa flavonoid dan terpenoid juga ditemukan pada minyak pala yang bertindak sebagai agen antibakteri (Pratiwi *et al.*, 2019). Mekanisme penghambatan senyawa ini dengan merusak sitoplasma sel bakteri dan sistem kerja sel yang mengakibatkan lisisnya sel (Jaelani *et al.*, 2014).

Penelitian ini perlu dilakukan sebagai langkah pengaplikasian minyak pala sebagai pengawet alami untuk memperpanjang masa simpan produk pangan, khususnya daging serta mengurangi dampak dari *foodborne disease* dan dampak penggunaan bahan pengawet sintesis. Tujuan penelitian ini untuk mengukur efektivitas minyak pala Fakfak dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada daging.

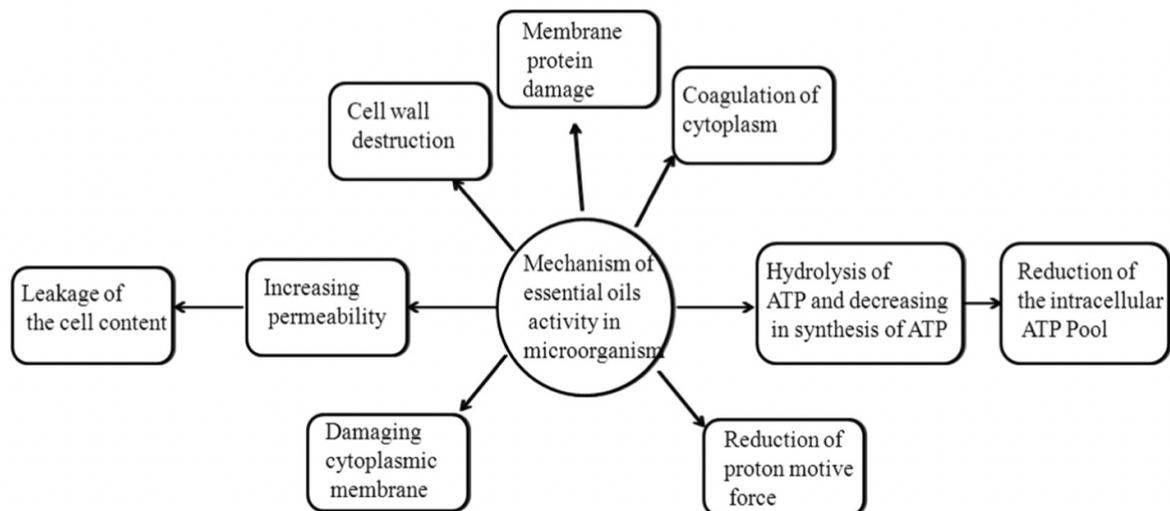
KAJIAN TEORITIS

Essential oil (minyak atsiri) adalah cairan tidak berwarna, berasal dari senyawa aromatik dan volatil yang secara alami ada di semua bagian tanaman termasuk biji, bunga, kulit dan batang (Nikolic *et al.*, 2021). Komponen utama pada minyak pala dari Indonesia yaitu sabin (21,38), 4terpineol (13,92), myristicin (13,57) (Muchtaridi *et al.*, 2010). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri berpotensi sebagai antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, dan antikanker (Das *et al.*, 2020; Kholibrina *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya menunjukkan zona hambat tertinggi pada minyak pala Jawa Tengah ialah pada konsentrasi 60% (12,96; 16,79; 13,46; dan 16,50 mm masing-masing pada *S. aureus*, *S. epidermis*, *S. dysenteriae*, *S. typhi*), sedangkan untuk minyak pala Sulawesi ialah pada konsentrasi 100% dengan zona hambat (18,84; 16,54; 17,84; dan

12,54 mm masing-masing untuk *S. aureus*, *S. epidermis*, *S. dysenteriae*, dan *S. typhi*) (Nurjanah *et al.*, 2017). Hasil lain ditunjukkan oleh (Cui *et al.*, 2015), dimana aktivitas penghambatan minyak pala terhadap bakteri gram positif (*S. aureus* dan *B. subtilis*) dan bakteri gram negatif (*E. coli*, *S. typhi*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *B. pumilus*) dengan konsentrasi penghambatan minimum 0.05% dan konsentrasi bakteriosida minimum 0.1%.

Aktivitas antimikroba dari *essential oil* (minyak atsiri) dan konstituennya memainkan peran kunci sebagai antimikroba. Efek dan metode penghambatan mikroorganisme dari minyak atsiri sangat dipengaruhi oleh komposisi senyawa penyusunnya. Namun mekanisme yang paling umum ialah merusak membran sel. Mekanisme penghambatan terhadap bakteri antara lain yaitu merusak membran sel, menghambat sintesis protein, dan mengganggu aktivitas spesifik enzim dan fungsi biologis sel. Minyak pala merusak membran dan mengubah permeabilitas sel menyebabkan pelepasan beberapa komponen seluler seperti ATP. Selain itu, minyak pala dapat mengganggu sintesis DNA sel bakteri, yang menyebabkan kematian bakteri (Cui *et al.*, 2015). Sifat hidrofobik dari minyak atsiri menyebabkan akumulasi pada lapisan ganda fosfolipid membrane sitoplasma, mengakibatkan hilangnya struktur, permeabilitas, konstituen seluler, dan fungsi dari membran (Jayasena & Jo, 2013). Selain itu, minyak atsiri secara signifikan bergerak melintasi lipid dari membran sel bakteri dan mengganggu struktur dinding sel (Cosentino *et al.*, 2022). Minyak atsiri menunjukkan aktivitas target tunggal dan ganda seperti, trans-cinnamaldehyde, salah satu senyawa utama essential oil memiliki keunggulan untuk mengendalikan pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus typhimurium* dengan cara menipiskan tingkat ATP intraseluler. Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh minyak pala dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme Penghamabatan Mikroorganisme

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli - September 2023. Preparasi sampel pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengolahan Pangan dan Laboratorium Kimia dan Analisa Pangan, Jurusan Agroindustri, Politeknik Negeri Fakfak. Aplikasi minyak pala pada daging dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Badan Riset Nasional Indonesia (BRIN) Yogyakarta.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain biji pala Fakfak, daging, minyak pala Fakfak, media PCA (*Plate Count Agar*), aquadest, etanol. Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain grinder, vial, cawan petri, oven pengering, destilasi, autoklaf, inkubator, dan *stomacher*.

Prosedur Penelitian

Biji pala dikeringkan atau diasar selama 7 hari kemudian dihancurkan menggunakan grinder. Selanjutnya penyulingan minyak atsiri dilakukan dengan proses distilasi. Distilasi dimulai dengan memasukkan 100 g serbuk biji pala ke dalam labu yang telah diisi air, kemudian dipanaskan selama 5-6 jam pada suhu 80°C hingga minyak atsiri menguap sempurna. Minyak atsiri yang diperoleh disimpan dalam botol gelap pada suhu 4 °C (Piaru *et al.*, 2012).

1 gr daging segar dimasukkan ke dalam vial 10 mL lalu ditetesi minyak pala sesuai perlakuan (0.5%, 1%, dst) kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama dua hari. Setelah diinkubasi, dilakukan perhitungan jumlah mikroba menggunakan metode *total plate count*. Daging yang telah diinkubasi dihaluskan menggunakan *stomacher* dengan

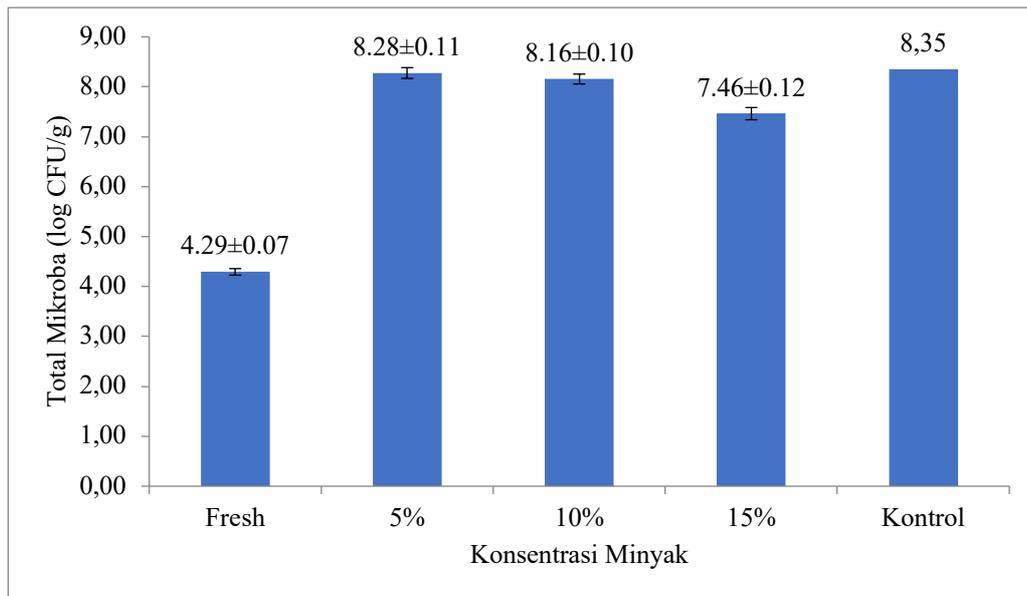
penambahan aquades steril 9 mL. Proses penghalusan daging dilakukan selama 5 menit pada 240 rpm. Homogenat atau sampel kemudian dipindahkan ke tabung reaksi steril. Sampel (1 mL) diencerkan dalam 9 mL larutan aquades steril hingga 10^{-6} dan 100 μ L dari setiap pengeceran diplating pada cawan petri yang berisi media PCA (*Plate Count Agar*). Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dihitung koloninya untuk menentukan Log_{10} CFU/ml. Semua alat dan bahan yang digunakan telah disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Cakmak *et al.*, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aplikasi Minyak Pala pada Daging

Hasil yang diperoleh dari aplikasi minyak biji pala Fakfak terhadap daging dapat dilihat pada Gambar 2. Gambar 2 menunjukkan bahwa total mikroba yang tumbuh pada daging segar sekitar 4.29 log CFU/g. Total mikroba yang tumbuh pada daging dapat berbeda, tergantung suhu penyimpanan, aktivitas air, tekanan osmose, pH (Nurani, 2023); tergantung pada tempat pengambilan daging, tempat penyimpanan daging dan sebagainya. Perbedaan total mikroba pada daging dapat dilihat pada hasil penelitian Wulandari (2014) menemukan total mikroba yang tumbuh dari RPH sebesar 5.1×10^4 CFU/g, dari pasar tradisional sebesar 2.7×10^4 CFU/g, dari kios penjual daging sebesar 4.9×10^4 CFU/g. Oliviera *et al.*, (2017) menemukan total mikroba pada daging impor 4.5×10^6 dan pada daging lokal 3.1×10^6 .

Penambahan minyak biji pala pada daging sebanyak 5% menunjukkan total mikroba sebesar 8.28 log CFU/g selama 24 jam inkubasi. Penurunan total mikroba terjadi dengan penambahan minyak biji pala 10% dan 15% secara berturut-turut menjadi 8.16 log CFU/g dan 7.46 log CFU/g selama 24 jam inkubasi. Sementara daging sapi yang diinkubasi selama 24 jam tanpa penambahan minyak biji pala menunjukkan total mikroba sebesar 8.35 log CFU/g. Hasil penelitian ini berbeda dengan Aisyah *et al.*, (2022) dengan menggunakan minyak biji pala menemukan total mikroba sebesar 3.00 CFU/g dan pada perlakuan kontrol sebesar 4.21 CFU/g.



Gambar 2. Pertumbuhan total mikroba pada daging dengan inkubasi selama 24 jam

Penggunaan minyak biji pala sebagai penghambat pertumbuhan mikroba patogen khususnya *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* juga telah dilakukan Cui *et al.* (2015) yang menunjukkan bahwa mekanisme antibakteri minyak pala terhadap bakteri dapat diartikan sebagai mengganggu membran sel dan menghambat sintesis DNA. Hal ini sejalan dengan pernyataan Kiarsi *et al.*, (2020) yang menunjukkan potensi pengendalian pertumbuhan mikroorganisme patogen dan oksidasi lipid.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa minyak biji pala memiliki efektifitas dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen pada daging baik pada konsentrasi 5%, 10% dan 15%. Semakin besar pemberian konsentrasi minyak biji pala maka pertumbuhan mikroba patogen pada daging semakin kecil.

Namun perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui konsentrasi maksimal minyak biji dalam menghambat pertumbuhan mikroba serta dikaitkan dengan lama penyimpanan dan sifat fisik dari daging tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Direktorat jenderal Pendidikan Tinggi Vokasi yang telah memberikan dukungan dana sehingga hasil dari penelitian ini dapat dijadikan sebagai referensi ilmiah untuk pengembangan pemanfaatan pala di Kabupaten Fakfak Papua Barat.

DAFTAR REFERENSI

- Aisyah, Y., Yunita, D., Amanda, A., Muzaiifa, M., & Irfan, I. (2022). Aplikasi Minyak Atsiri Pala (*Myristica fragrans* Houtt) dan Komponennya (α -pinene dan sabinene) sebagai Bioaditif pada Daging Sapi. *Jurnal Agripet*, 22(1), 1-9.
- Cakmak, A. M., Unal, S., Sahin, A., Oktar, F. N., Sengor, M., Ekren, N., & Kalaskar, D. M. (2020). 3D printed polycaprolactone/gelatin/bacterial cellulose/hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering. *Polymers*, 12(9), 1962.
- Cosentino, S. C. I. G., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M. L., Mascia, V., Arzedi, E., Palmas, F. (2022) 'In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils', *Letters in Applied Microbiology*. 29(2): 130-135.
- Cui, H., Zhang, X., Zhou, H., Zhao, C., Xiao, Z., Lin, L., dan Li, C. (2015) 'Antibacterial Properties of Nutmeg Oil in Pork and its possible mechanism', *Journal of Food Safety*.
- Das, S., Kumar Singh, V., Kumar Dwivedy, A., Kumar Chaudhari, A., Upadhyay, N., Singh, A., dan Dubey, N. K. (2020) 'Assessment of chemically characterised *Myristica fragrans* essential oil against fungi contaminating stored scented rice and its mode of action as novel aflatoxin inhibitor', *Natural Product Research*. 34(11): 1611-1615.
- Jaelani, A., Dharmawati, S., & Wanda, W. (2014). Berbagai lama penyimpanan daging ayam broiler segar dalam kemasan plastik pada lemari es (suhu 4oc) dan pengaruhnya terhadap sifat fisik dan organoleptik. *Ziraa'ah Majalah Ilmiah Pertanian*, 39(3), 119-128.
- Jayasena, D. D., & Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 34(2), 96-108.
- Kholibrina, C. R., dan Aswandi, A. (2021) 'The aromatherapy formulation of essential oils in reducing stress and blood pressure on human', In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 914(1): 012072.
- Kiarsi, Z., Hojjati, M., Behbahani, B. A., & Noshad, M. (2020). In vitro antimicrobial effects of *Myristica fragrans* essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 40(3), e12782.

- Muchtaridi, Subarnas, A., Apriyantono, A., Mustarichie, R. (2010). Identification of compounds in the essential oil of nutmeg seeds (*Myristica fragrans* Houtt.) that inhibit locomotor activity in mice. *Int. J. Mol. Sci.* 11: 4771–4781.
- Nathania, I., Nainggolan, I. M., Yasmon, A., Nusatia, A. C. M., Tjoa, E., Gunardi, W. D., & Moehario, L. H. (2022). Hotspots sequences of gyrA, gyrB, parC, and parE genes encoded for fluoroquinolones resistance from local Salmonella Typhi strains in Jakarta. *BMC microbiology*, 22(1), 1-13.
- Nikolic, L., Dinic, A., Gajic, I., Urosevic, M., Stanojevic, L., Danilovic, B. (2021) ‘Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) seed essential oil’, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 24(2): 218-227.
- Ningrum, S. N. J. E. (2018). *Faktor-faktor yang mempengaruhi permintaan daging sapi di indonesia* (Bachelor's thesis, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta).
- Nurani, A. (2023). *Kandungan Total Bakteri Daging dan Cacing Saluran Pencernaan pada Sapi Bali Jantan dengan Pemberian Kulit Nanas Fermentasi* (Doctoral dissertation, Universitas Mataram).
- Nurjanah, S., Putri, I. L., dan Sugiarti, D. P. 2017. Antibacterial Activity of Nutmeg Oil. *2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Food Security: A Comprehensive Approach, KnELife Sciences*: 563-569.
- Oliviera, V., Dewi, G. K., & Suriasih, K. (2017). Kualitas Dan Profil Mikroba Daging Sapi Lokal Dan Impor Di Dili-Timor Leste.
- Piaru, S. P., Mahmud, R., Majid, A. M. S., Nassar, Z. D. M. (2012) ‘Antioxidant and antiangiogenic activities of the essential oils of *Myristica fragrans* and *Morinda citrifolia*’, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 5(4): 294-298.
- Pratiwi, A., Noorlaela, E., & Mahyuni, S. (2019). Uji Daya Hambat Sediaan Sabun Cair Ekstrak Daun Pala (*Myristica fragrans* houtt) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus*. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, 19(2), 80-88.
- Suloi, A. F. (2021). Bioaktivitas Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Ulasan Ilmiah. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 3(1), 11-18.
- Wulandari, F., & Rahayu, T. (2014). *Total jumlah bakteri pada daging sapi segar yang dibungkus daun jati dengan variasi lama penyimpanan* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).

Yemiş, G. P., & Candoğan, K. (2017). Antibacterial activity of soy edible coatings incorporated with thyme and oregano essential oils on beef against pathogenic bacteria. *Food science and biotechnology*, 26, 1113-1121.

Zahra, A. (2012). Analisis sumberdaya dan konsumsi daging sapi di Indonesia Tahun 2005-2010.