

Pemisahan Senyawa 1,4-terpineol dan Safrol dari Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica Fragrans* Houtt) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Shigella dysenteriae*

Sparation of 1,4-Terpineol and Safrol from Nutmeg Seed Essential Oil (*Myristica Fragrans* Houtt) And *Shigella dysenteriae* Bacteria Activity Test

Tiara Dwi Ayunani^{1*}, Ines Tri Hastuti¹, Hery Muhamad Ansory², Anita Nilawati²
¹Jurusan D III Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta
²Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta
*e-mail : tiara.ayunani@gmail.com

Abstrak

Pala merupakan tanaman yang digunakan dalam industri makanan, obat-obatan, parfum dan kosmetik. Minyak atsiri biji pala diketahui memiliki kandungan senyawa 1,4-terpineol dan safrol yang diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Pemisahan senyawa 1,4-terpineol dan safrol dari minyak atsiri biji pala dilakukan dengan metode distilasi fraksinasi pengurangan tekanan dengan tekanan 95 mmHg pada suhu 200-225 °C. Analisis kandungan senyawa pada minyak atsiri biji pala dan hasil pemisahan dilakukan dengan GC-MS dan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dan dilusi.

Hasil analisis menunjukkan bahwa minyak atsiri biji pala mengandung 5 senyawa dominan yaitu α -pinene, sabinene, 2- β -pinen, terpineol dan miristisin, hasil pemisahan mengandung 49,05% 1-4 terpineol dan 20,34% safrol. Hasil uji difusi menunjukkan bahwa minyak atsiri biji pala dengan konsentrasi 1,25% memiliki zona hambat sebesar 12,11 mm yang tergolong kuat, sedangkan hasil pemisahan dengan konsentrasi sama memiliki zona hambat 9,66 mm yang tergolong sedang. Hasil dilusi minyak atsiri pala dan hasil pemisahan memiliki zona bunuh yang sama pada konsentrasi 1,25%.

Kata kunci : minyak atsiri biji pala, fraksinasi, GC-MS, *Shigella dysenteriae*

ABSTRACT

Nutmeg were plants that used as material in food, medicine, perfume and cosmetics industries. Nutmeg essential oil contain 1,4-terpineol and safrol compounds that predicted have antibacterial activity.

Sparation of 1,4-terpineol and safrol compound from nutmeg essential oil was carried out by fractional distillation method at 95 mmHg and 200- 225°C. Analysis of nutmeg essential oil and sparation carried out by GC-MS and antibacterial activity tests with diffusion and dilution methods.

The Analysis results showed that nutmeg seed essential oil contain 5 mayor compounds, α -pinena, sabinen, 2- β -pinen, terpineol and miristisin, the sparation result contain 40.05%1-4 and 20.34% safrol. The diffusion test showed that 1.25% nutmeg seed essential oil have 12,11mm inhibition zone that classified as strong inhibition, and the sparation result have 9,66mm inhibitor zone that classified as moderately inhibition. The dilution test result of nutmeg essential oil and the separation result have activity for bactericidal has the same at consentration 1.25%.

Keywords: nutmeg essential oil, fractionation, GC-MS, *Shigella dysenteriae*

PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang dikenal sebagai tumbuhan obat tradisional adalah pala (*Myristica fragrans* Houtt), tanaman ini memiliki banyak manfaat

dan harga yang cukup tinggi. Seluruh bagian tanaman ini memiliki khasiat yang luar biasa bagi manusia. Biji, fuli dan minyak atsiri dari pala merupakan yang paling banyak diekspor, serta

digunakan dalam industri makanan dan minuman. Minyak yang berasal dari biji, fuli dan daun digunakan dalam industri obat-obatan, parfum dan kosmetik (Agoes, 2010).

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, α -Pinena, Safrol, Miristisin, α -Terpineol asetat, Eugenol, Limonena dan lain-lain Agusta (2000). Penelitian tentang minyak atsiri saat ini banyak diarahkan untuk memanfaatkannya sebagai antimikroba penyakit yang disebabkan oleh bakteri atau jamur (Rastuti 2013).

Shigella dysenteriae merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit disentri basiler (*Shigellosis*). *Shigellosis* timbul dengan gejala adanya nyeri abdomen, demam, buang air besar berdarah, dan feses berlendir. Infeksi juga ditandai dengan diare kurang lebih 20 kali selama sehari (Iskamto, 2009).

Umumnya masyarakat dalam mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi terhadap bakteri sering menggunakan antibiotik. Pemakaian obat sintesis seperti antibiotik ini memiliki efek samping seperti menimbulkan reaksi alergi, serta harganya yang mahal dan sukar didapat. Selain itu penggunaan antibiotik secara berlebihan dan kurang terarah dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap mikroorganisme.

Salah satu alternatif untuk mengurangi konsumsi terhadap antibiotik sintesis adalah dengan mengonsumsi antibiotik alami yang bersumber dari tumbuhan. Salah satu tanaman yang potensial sebagai antibiotik alami adalah biji pala karena memiliki beberapa kandungan senyawaseperti 1,4 terpineol dan safrol yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Salah satu cara untuk mendapatkan senyawa tertentu dalam

minyak atsiri biji pala dengan melakukan destilasi fraksinasi pengurangan tekanan. Analisis kandungan minyak atsiri biji pala dan hasil pemisahan dilakukan dengan GC-MS dan uji aktivitas antibakteri fraksi minyak atsiri biji pala terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dengan metode difusi dan dilusi.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Seperangkat alat fraksinasi. Alat GC-MS (Shimadzu (QP2010)), vial penginjek dan mikropipet. Seperangkat alat kaca mikrobiologi, autoclaf, inkubator, inkas, disk blank.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu minyak atsiri biji pala, etanol 96%, aquadestila, *tween 80*, heksan p.a (*Merck*), Aseton p.a (*Merck*), MHA p.a, SSA p.a, BHI p.a, media uji biokimia (SIM, KIA, LIA, CITRAT), Gentamisin 10 μ g, Standar Mc Farlan, biakan murni bakteri *Shigella dysentriae* koleksi Universitas Setia Budi.

Cara kerja

1. Fraksinasi minyak atsiri pala
Minyak biji pala di fraksinasi suhu 200 C tekanan 95 mmHg Sampel kemudian residu di fraksinasi kembali pada suhu 225°C dengan metode destilasi pengurangan tekanan pada tekanan 95 mmHg.
2. Identifikasi fraksi minyak atsiri biji pala dan fraksi minyak atsiri biji pala Minyak atsiri biji pala dan hasil dianalisis menggunakan GC-MS (Shimadzu (QP2010) dengan metode / kondisi yang sama.
3. Pengujian aktivitas antibakteri
Memulai pengujian antibakteri melalui sterilisasi alat, menyiapkan media pertumbuhan bakteri dan mengembangbiakkan bakteri.

Uji difusi

Dilakukan dengan metode metode kertas cakram (*disk blank*). Cakram yang sudah direndam

selama 5 menit dalam fraksi minyak atsiri biji pala dalam beberapa konsentrasi kemudian di tanam dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk, yang ditandai dengan adanya zona bening pada daerah sekitar cakram uji.

Uji Dilusi

Fraksi minyak atsiri pala diuji aktivitas bakteri *Shigella dysenteriae* dengan metode dilusi dengan konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; dan 1,25% dengan pelarut aquadestilata dan penambahan tween 80 sebanyak 100µl. Pengamatan dilakukan dengan mengamati kekeruhan pada tabung, kemudian untuk menentukan KHM dan KBM dari bakteri, perlu dilakukan

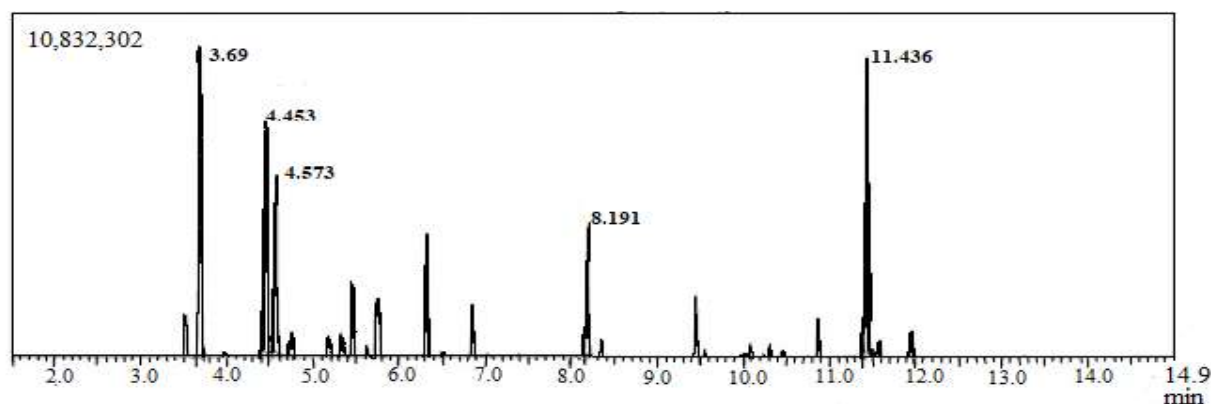
penggoresan pada media padat. Tabung ke-1 sampai ke-5 dan ke-7 digores pada media padat. Media yang digunakan yaitu media SSA. Media yang sudah digores, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian melakukan pengamatan dan menentukan KHM dan KBM.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak biji pala sebanyak 500 ml berwarna jernih sampai kuning muda dengan berat jenis 0,903, indeks bias 1,481, dan kelarutan dengan ethanol 96% 1:1 sesuai dengan standart. Setelah itu dilakukan analisis uji GC-MS pada minyak atsiri biji pala menghasilkan 5 senyawa utama yaitu α -pinene, sabinene, 2- β -pinen, terpineol dan miristisin.

Tabel 1 SNI minyak pala (BSN, 2006)

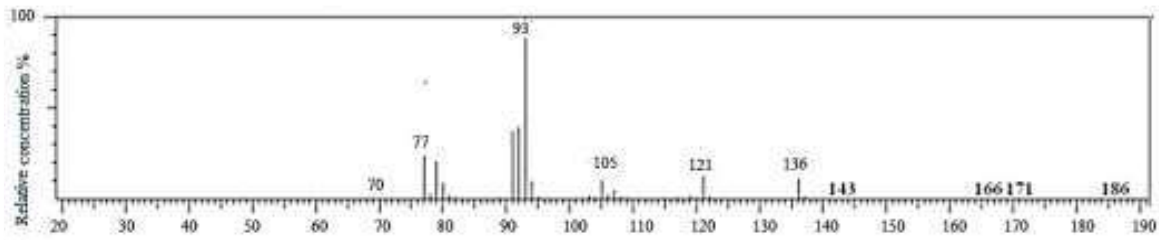
Komponen Mutu	Standar Mutu
Warna	Jernih - kuning muda
Berat Jenis, 20°C/ 20°C	0,885 - 0,907
Indeks, 20°C	1,475 - 1,485
Putaran Optik, 20°C	(+6°) - (+18°)
Kelarutan dalam etanol 90%	1:1 – 1:3
Sisa Penguapan (%)	Maks.2



Gambar 1 GC-MS 5 senyawa dominan minyak atsiri biji pala

Tabel 2 waktu retensi senyawa dominan dalam minyak atsiri pala

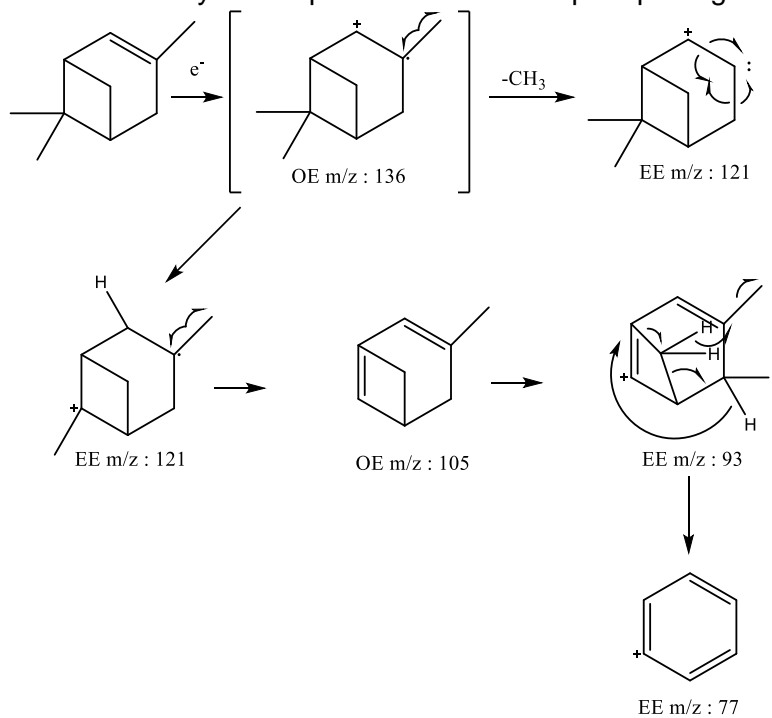
Waktu Retensi	% area	Nama senyawa
3,690	17,61	α -Pinene
4,453	16,39	Sabinene
4,473	11,89	2-Beta-pinene
8,191	6,16	Terpineol
11,435	16,34	Miristisin



Gambar 2 MS senyawa α -pinen

Senyawa α -pinen waktu retensi 3, 690 menit . Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 136 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen mirip dengan senyawa α -pinene. Prediksi rumus molekul senyawa dapat

digunakan untuk mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa $C_{10}H_{16}$ mempunyai nilai DBE = 3, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 2 siklik yang mempunyai 1 ikatan rangkap 2. Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan diusulkan pola fragmentasi dari senyawa α -pinene adalah seperti pada gambar 3.

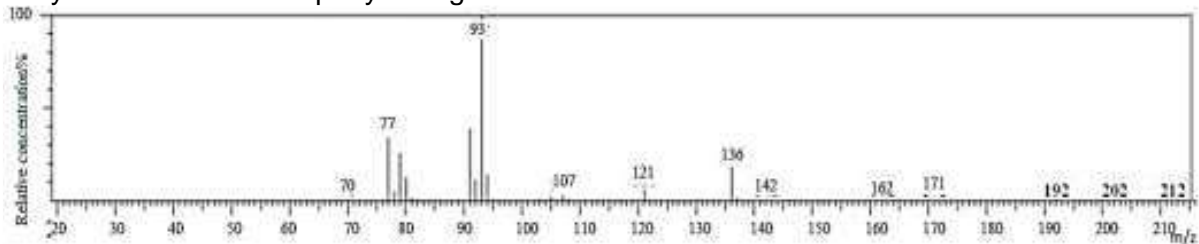


Gambar 3 fragmentasi senyawa α -pinene (Hidayah, 2018)

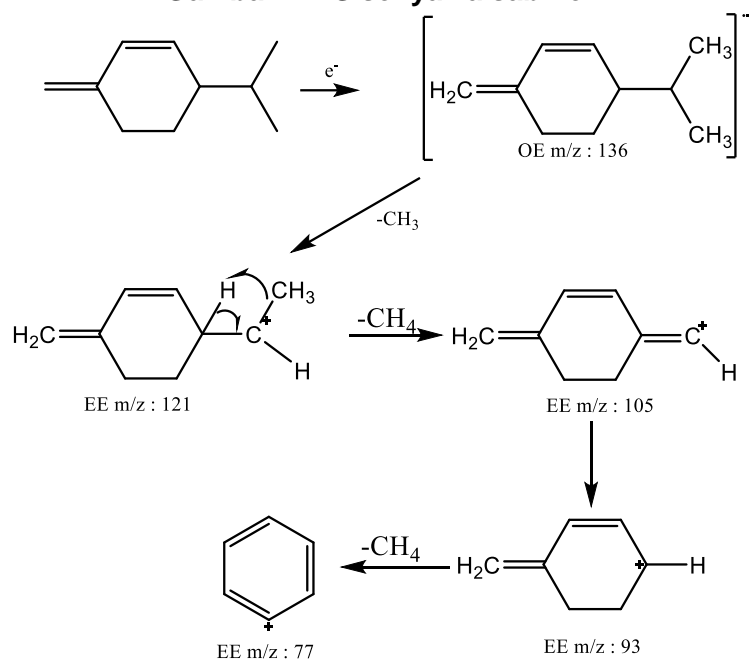
Senyawa sabinen waktu retensi 4,453 menit, berdasarkan data dan hasil analisis yang telah dilakukan diusulkan pola fragmentasi dari senyawa sabinene seperti pada gambar 5.

Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 136 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul C₁₀H₁₆ dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen

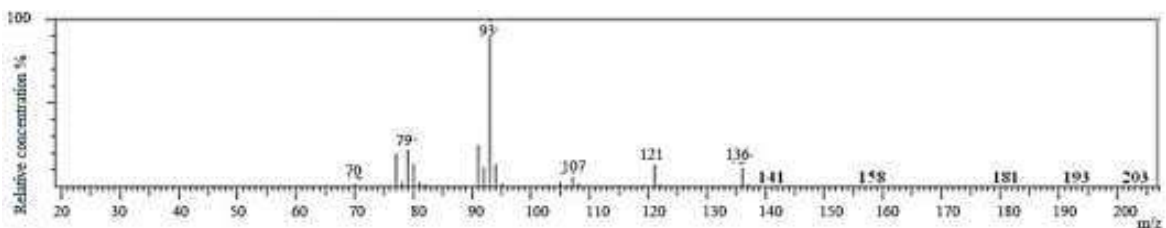
mirip dengan senyawa sabinene. Perbedaan senyawa pertama dengan kedua yaitu pada pola pemecahan molekul atau pola fragmentasi senyawa. Prediksi rumus molekul senyawa dapat digunakan untuk mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa C₁₀H₁₆ mempunyai nilai DBE = 3, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 siklik yang mempunyai 2 ikatan rangkap 2.



Gambar 4 MS senyawa sabinen



Gambar 5 fragmentasi senyawa sabinen (Hidayah, 2018)



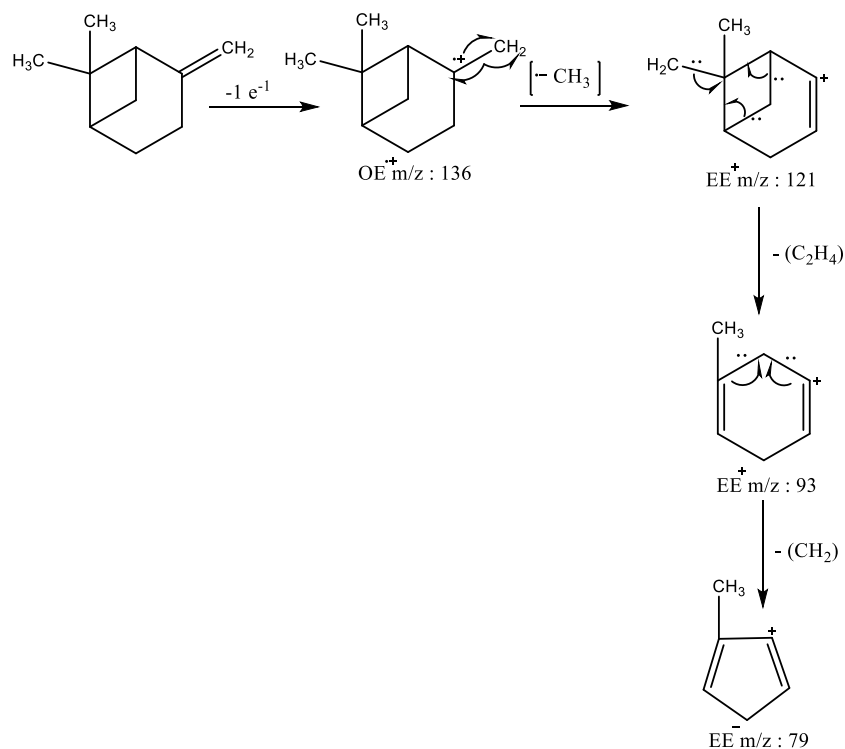
Gambar 6 MS senyawa β-pinene

Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan diusulkan pola fragmentasi dari senyawa 2-beta-pinene seperti pada gambar 7.

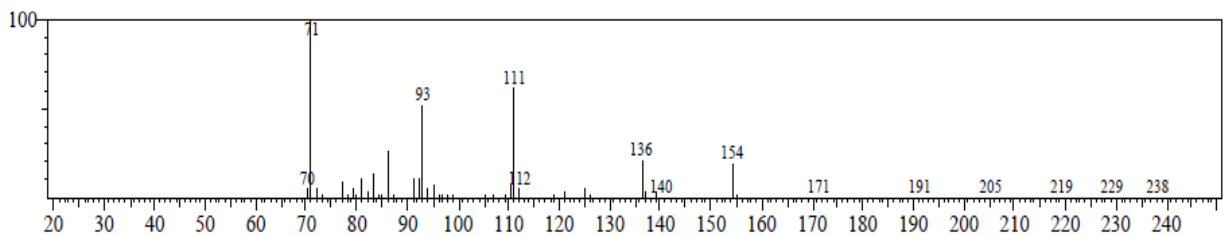
Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 136 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul C₁₀H₁₆ dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen

mirip dengan senyawa 2-β-pinene. Senyawa C₁₀H₁₆ mempunyai nilai DBE = 3, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 2 siklik dan mempunyai 1 ikatan rangkap 2.

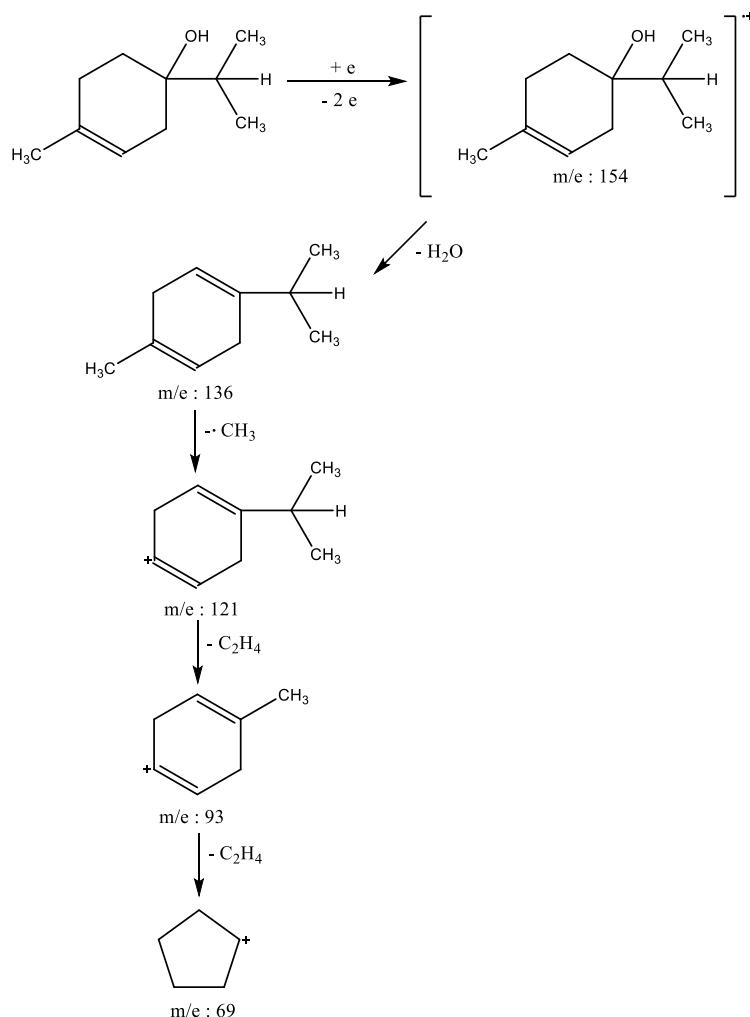
Senyawa terpeneol waktu retensi 8,191 menit. Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan diusulkan pola fragmentasi dari senyawa 2-beta-pinene seperti pada gambar 9.



Gambar 7 fragmentasi senyawa 2-β pinene (Hidayah, 2018)



Gambar 8 MS senyawa terpeneol



Gambar 9 Fragmentasi senyawa terpineol (Sinambela, 2012)

Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 154 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul C₁₀H₁₈O dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen mirip dengan senyawa terpineol. Prediksi rumus molekul senyawa dapat digunakan untuk mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa C₁₀H₁₈O mempunyai nilai DBE = 2 diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1 ikatan rangkap 2.

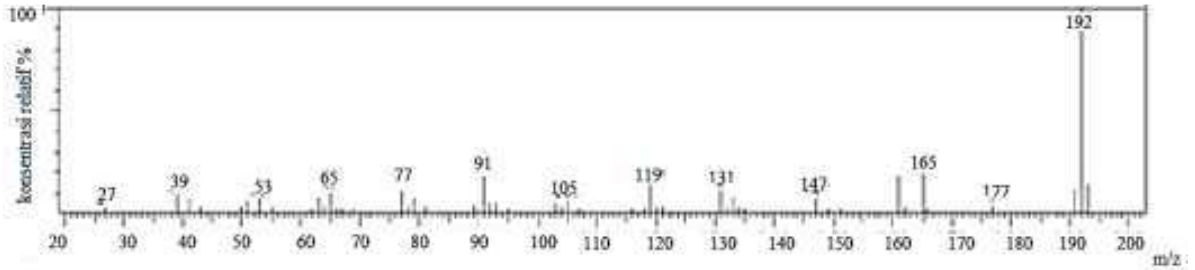
Senyawa miristisin waktu retensi 11,435 menit. Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan diusulkan

pola fragmentasi dari senyawa miristisin seperti pada gambar 11.

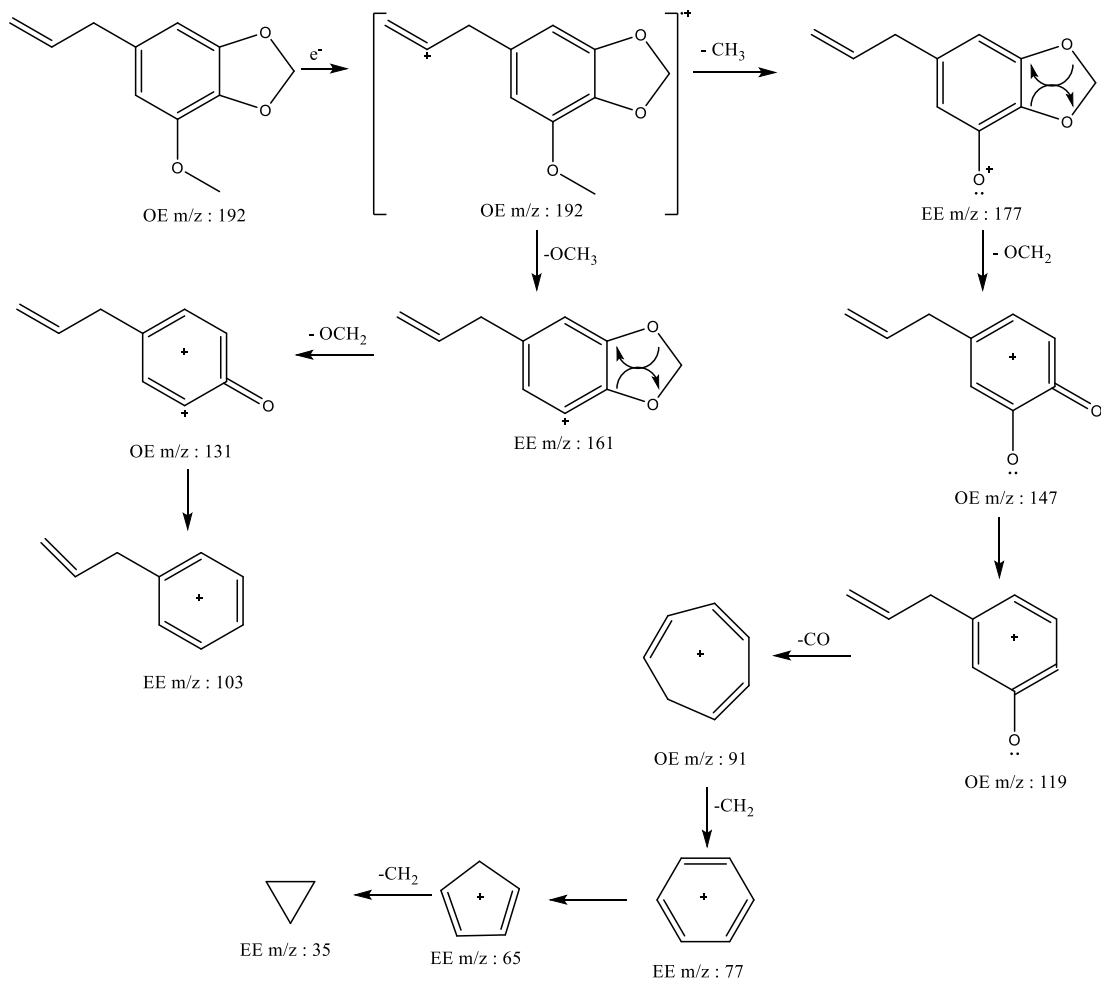
Dari MS yang dihasilkan, terlihat massa molekul senyawa adalah 192 dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mempunyai rumus molekul C₁₁H₁₂O₃ dan berdasarkan pustaka MS senyawa tersebut mempunyai fragmen mirip dengan senyawa myristisin. Atom O pada senyawa ini, diprediksi berdasarkan pola fragmen khas dari atom O yaitu C=O yang mempunyai nomor atom 18. Prediksi rumus molekul senyawa dapat digunakan untuk mengetahui rumus DBE dari suatu senyawa. Senyawa

C₁₁H₁₂O₃ mempunyai nilai DBE = 6, diprediksi senyawa tersebut terdiri dari 1

cincin aromatik, 1 siklik dan mempunyai 1 ikatan rangkap 2.



Gambar 10 MS senyawa miristin

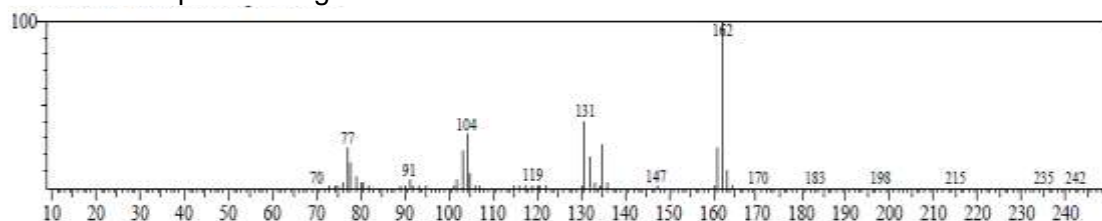


Gambar 11 fragmentasi senyawa miristin (Ansory, 2014)

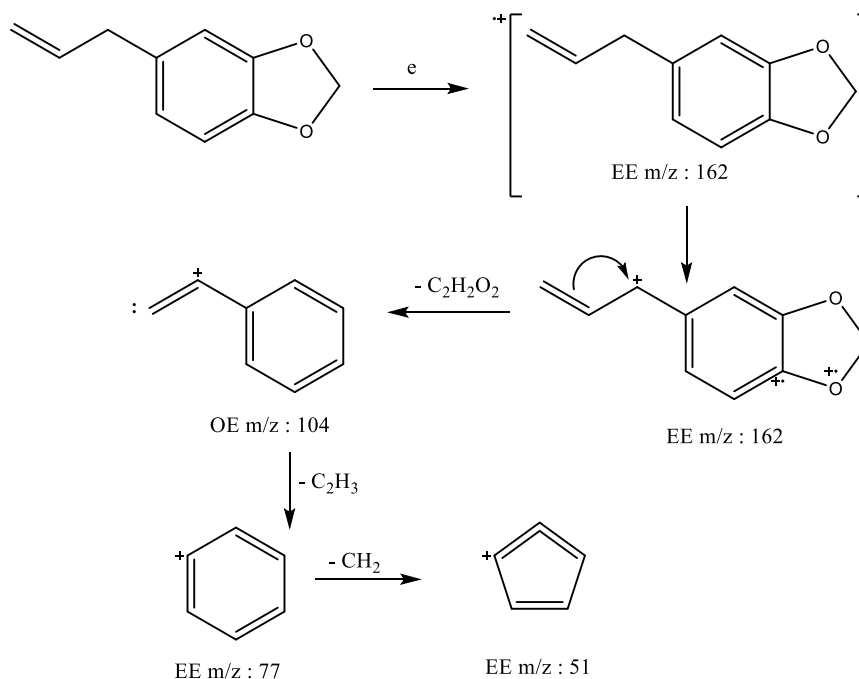
Fraksinasi dilakukan pada suhu 200°C pada tekan 95mmHg kemudian hasil residu di fraksinasi kembali dengan suhu 225°C pada tekanan 95mmHg. Hasil fraksi memiliki warna jernih, dengan berat jenis 1,220, indeks bias 1,492, dan kelarutan dengan ethanol 96% 1:1, setelah dilakukan analisis uji GC-MS didapat 3 senyawa dominan yaitu : 1,4-terpineol, safrol, dan miristisin. Hasil GC-MS dan fragmentasi 1,4-terpineol dapat dilihat pada gambar 8 dan gambar 9, untuk hasil GC-MS dan fragmentasi miristisin dapat dilihat pada gambar 10 dan gambar 11.

Senyawa safrol pada waktu retensi 9.463 menit. Berdasarkan data dan analisis yang telah dilakukan diusulkan pola fragmentasi dari

senyawa safrol seperti pada gambar 13. 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. Perbedaan senyawa pertama dengan kedua yaitu pada pola pemecahan molekul atau pola fragmentasi senyawa. 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 cincin aromatik, 1 siklik dan mempunyai 1 ikatan rangkap 2.



Gambar 12 MS senyawa safrol



Gambar 13 Fragmentasi senyawa safrol (Ansory,2018).

Tabel 3 Hasil Dilusi pada bakteri *Shigella dysenteriae*

Konsentrasi	Hasil	
	Minyak atsiri biji pala	Fraksi target
Kontrol positif	+	+
Kontrol negatif	-	-
10%	-	-
5%	-	-
2,5%	-	-
1,25%	-	-

Ket : + : di tumbuhi bakteri
 - : tidak ditumbuhi bakteri

Tabel 4 Hasil Difusi pada bakteri *Shigella dysenteriae*

Konsentrasi	Hasil (mm)	
	Minyak atsiri biji pala	Fraksi target
Kontrol positif	16,444	15,222
20%	10,111	9,889
10%	11	9,889
5%	12,222	7,889
2,5%	11	8,556
1,25%	12,111	9,667

Uji efektifitas pada minyak atsiri pala dan fraksi target terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* peneliti melakukan uji dilusi dan difusi dimana masing – masing pengujian dilakukan 3 kali replikasi dengan menggunakan media SSA (*Salmonella & Shigella Agar*) untuk dilusi dan MHA (*Muller Hinton Agar*) untuk dufusi. Setelah melakukan pengujian dilusi dan difusi didapatkan bahwa minyak atsiri pala memiliki daya hambat yang kuat > 10 mm, yaitu dengan diameter 12,11 mm sedangkan fraksi target konsentrasi sama dapat menghambat dengan rata-rata diameter zona hambat sedang yaitu sebesar 9,66 mm dan hasil dilusi minyak atsiri pala maupun fraksi target memiliki zona bunuh yang sama pada konsentrasi 1,25%. Hasil minyak atsiri pala pada uji aktifitas antibakteri lebih baik dikarenakan kandungan minyak atsiri pala lebih kompleks dan dapat bersinergis dalam melawan bakteri dibanding dengan fraksi target yang memiliki senyawa yang lebih sedikit

sehingga efektifitas sebagai antibakteri jauh lebih kecil.

Senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri dalam minyak atsiri pala dan fraksi salah satunya adalah safrol dan terpineol. Senyawa terpineol merupakan salah satu turunan fenol yang memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri, 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 sehingga menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan melisiskan sel membran (Parwata dan Dewi, 2008).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dapat ditarik kesimpulan fraksi minyak atsiri pala mengandung 5 senyawa komponen utama yaitu α -pinene, sabinene, 2- β -

pinen, terpineol dan miristisin, serta kandungan senyawa fraksi target dominan mengandung senyawa 1-4 terpineol dan safrol Minyak atsiri pala memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Shigella dysenteriae* lebih baik dibanding fraksi target karena senyawa minyak atsiri jauh lebih kompleks sehingga jauh lebih baik dalam melawan bakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan berkat, rahmat, dan kelancaran selama proses penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada DPRM Kemenristek DIKTI melalui LPPM Universitas Setia Budi Surakarta yang telah membiayai penelitian ini pada skema PDP dengan Nomor: 004/LPPM-USB/PDP/III/2018

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika. Halaman 85.
- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB .
- Amelia N, Siadi, Latifah. 2015. Pengaruh Temperatur pada Reaksi Hidrasi alpha pinene menjadi alpha terpineol terkatalis Ziolid alam teraktifasi. Universitas Negeri Semarang.
- Ansory HM, Sastrohamidjojo H, Purwono B. 2015. Perbandingan Kualitas Minyak Atsiri Pala Hasil Isolasi dari Bagian-Bagian Buah Pala Berdasarkan Kadar Miristisin. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol.14 No.02 hal127 – 136, hal 127 – 136
- Ansory, Hery Muhamad. 2014. *Sintesis Turunan Kalkon Dari Miristisin Minyak Pala Dan Uji Potensi Sebagai Penghambat UV-A*. Thesis. Yogyakarta: UGM Press.
- Ansory, Hery Muhamad. 2018. Analisis Senyawa Minyak Atsiri Fuli Pala Secara GC-MS dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Ecschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Majalah Farmasi* vol. 13 (2)
- Davis WW, Stout TR. *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assy*.Appl Micobiol.1997;22(4):659-65
- Iskamto, G. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*. Cetakan 1. Surakarta : UNS Press. Halaman115.
- Hidayah, Nur'aini. 2018. Analisis Minyak Atsiri Fuli Pala Dengan Gc-MS Serta Uji Aktivitas Terhadap Bakteri *Ecschericia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Surakarta: Universitas Setia Budi
- Kitson, Fulton G. 1996. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry : A Practical Guide*. USA: Academic Press. San Diego.
- Medeiros AL, Lima EO, Souza EL, Diniz M, Trajano VN, Medeiros IA. 2007. Inhibitory effect of β -pinene, α -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. vol. 43
- Nurdjannah, N. and Mulyono, E., 2007. *Teknologi Pengolahan Pala. Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian*. Bogor
- Nurdjannah, Nanan. 2007. *Teknologi Pengolahan Pala. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 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 U, Widyaningsi S, Kartika D, Ningsi D. 2012. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun pala

- dari Banyumas terhadap *Streptococcus Aureus* dan *Escherichia coli* serta identifikasi senyawa penyusunnya. Purwokerto: Universitas Jenderal Soedirman; p. 197-203.
- Sastrohamidjojo H. 2013. *Dasar-Dasar Spektrokopis. Gajah Mada University Press*. Yogyakarta
- Siti, N., Mardawati, E., dan Herudiyanto, M. 2010. Pemisahan Eugenol Dari Minyak Cengkeh Dengan Cara Distilasi Fraksinasi. *Teknologi Industri Pangan*. Vol. 4. No. 2, Hal. 2.
- Sinambela, Srivita Efi. 2012. Isolasi dan analisi kimia minyak atsiri dsri temulwak (*Curcuma xanthoriza* Roxb) dengan Gas Kromatografi-Spektrometer Massa (GC-MS) dan uji aktifitas antibakteri. Universitas Sumatra Utara.