

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI PALA (*Myristica fragrans Hout*)
SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PERTUMBUHAN *Vibrio*
parahaemolyticus PENYEBAB PENYAKIT VIBRIOSIS PADA IKAN
KERAPU (*Epinephelus* spp.) *IN VITRO***

**THE EFFECTIVENESS OF NUTRITION (*Myristica fragrans Hout*) SEED
EXTRACTS AS AN ANTIBACTERIA ON THE OF *Vibrio*
parahaemolyticus CAUSES OF VIBRIOSIS IN GROUPER (*Epinephelus*
spp.) *IN VITRO***

Rizky Aldi Zulfaizi^{*}, Gede Iwan Setiabudi¹, Indah Mastuti², Ketut Mahardika²

¹Jurusan Biologi dan Perikanan Kelautan Universitas Pendidikan Ganesha Jl. Udayana No. 11, Banjar Tegal, Singaraja, Kabupaten Buleleng, Bali 81116

²Pusat Riset Perikanan, Organisasi Riset Kebumian dan Maritim, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong, Jawa Barat

*Korespondensi email : bocorbocor27@gmail.com

(Received 7 Juli 2022; Accepted 2 Agustus 2022)

ABSTRAK

Salah satu ikan yang paling unggul untuk dibudidayakan di Indonesia ialah kerapu. Akan tetapi komoditas ini sering dihadapkan oleh kematian masal yang di akibatkan oleh penyakit vibriosis seperti bakteri *V. parahaemolyticus*. Telah banyak pemakaian antibakterial yang berasal dari bahan alami yang terus dilakukan pengembangan. Biji pala (*Myristica fragrans Hout*) ialah tanaman yang masih tradisional dengan kandungan zat antibakterialnya yang banyak. Dilaksanakannya pengujian ini yakni guna mengetahui efektivitas dari ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Hout*) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*. Metode penelitian menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap non faktorial. Biji pala dilakukan proses ekstraksi dengan pemakaian etanol 96% dan pemanasan rendah dengan metode maserasi. Uji efektivitas ekstrak biji pala pada konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% terhadap *V. parahaemolyticus* dengan metode yang digunakan yakni cakram disk. Erythromycin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwasanya ekstrak biji pala konsentrasi 40% memiliki zona hambat terhadap *V. parahaemolyticus* paling tinggi yaitu, $10,8 \pm 0,57$ mm ($P < 0,05$) dibandingkan dengan ekstrak biji pala pada konsentrasi 5-20% ($7,3 \pm 0,84$, $9,0 \pm 0,50$, $9,8 \pm 0,76$ mm). Zona hambat ekstrak biji pala tersebut masih lebih rendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan zona hambat dari erythromycin yaitu $19,5 \pm 0,5$ mm. Namun demikian, ekstrak biji pala memiliki potensi menghambat pertumbuhan *V. parahaemolyticus*.

Kata Kunci: Antibakteri, Ekstrak Biji Pala, *V. parahaemolyticus*, Daya Hambat.

ABSTRACT

One of the most superior fish to be cultivated in Indonesia is grouper. However, this commodity is often faced with mass deaths caused by vibriosis diseases such as *V. parahaemolyticus* bacteria. Therefore, there have been many uses of antibacterials derived from natural ingredients, which are continuously being developed. Nutmeg (*Myristica fragrans* Hout) is a traditional plant with many antibacterial substances. This test was carried out to determine the effectiveness of nutmeg seed extract (*Myristica fragrans* Hout) as an antibacterial against the growth of *V. parahaemolyticus* in vitro. The research used an experimental method with a non-factorial, utterly randomized design. Nutmeg seeds were extracted using 96% ethanol and low heating using the maceration method. Test the effectiveness of nutmeg seed extract at concentrations of 5%, 10%, 20% and 40% against *V. parahaemolyticus* with the method used, namely disc discs. Erythromycin is a positive control and equates to negative control. The results showed that the nutmeg extract at a concentration of 40% had the highest inhibition zone against *V. parahaemolyticus*, namely, 10.8 ± 0.57 mm ($P < 0.05$) compared to nutmeg extract at a concentration of 5-20% (7, 3 ± 0.84 , 9.0 ± 0.50 , 9.8 ± 0.76 mm). The inhibition zone of the nutmeg seed extract was still lower ($P < 0.05$) compared to the inhibition zone of erythromycin, which was 19.5 ± 0.5 mm. However, nutmeg seed extract has the potential to inhibit the growth of *V. parahaemolyticus*.

Keywords: Antibacterial, Nutmeg Seed Extract, *V. parahaemolyticus*, Inhibitory Power

PENDAHULUAN

Intensifikasi komoditas laut seperti udang vaname (*Penaeus vannamei*), ikan kerapu (*Epinephelus* sp.) dan ikan kakap (*Lates calcarifer*) sebagai komoditas perikanan budidaya mengalami perkembangan pesat sejak 20 tahun terakhir. Terdapat kerapu yang berhasil untuk dilakukan pembudidayaan yakni ada 3 jeni seperti kerapu macan (*E. fuscoguttatus*), kerapu sunu (*Plectropomus leopardus*), kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*), dan kerapu lumpur (*E. coioides*) (Mulyani et al., 2021). Selain itu juga telah dikembangkan pembudidayaan pada ikan kerapu yang telah mengalami persilangan antara kerapu kertang yang jantan (*E. lanceolatus*) dengan kerapu macan yang betina dimna dikenal dengan nama lokal kerapu cantang, dan ikan kerapu hibrida hasil persilangan antara induk jantan ikan kerapu batik (*E. polyphekadion*) dengan induk betina kerapu macan yang dikenal dengan nama lokal kerapu cantik (Ismi et al., 2014). Akan tetapi dalam perkembangan budidaya ikan kerapu tersebut sering di hadapkan oleh kematian massal yang diakibatkan oleh infeksi mikroorganisme patogen diantaranya parasite, jamur, bankteria, serta virus.

Penyakit yang diakibatkan oleh bakteri sering menimpa komoditas air laut adalah *Vibrio* sp. yang dikenal dengan *vibriosis* (Novriadi et al., 2014). Penyakit ini terbilang cukup menjadi permasalahan yang sering dialami oleh pembudidaya air laut baik itu komoditas udang maupun ikan (Nasi et al., 2011). *Vibrio* sp. yang dilaporkan menginfeksi komoditas kerapu macan pada KJA di Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan adalah *V. parahaemolyticus*, *V. metschnikovii*, dan *V. mimicus* (Ilmiah et al., 2012). Beberapa spesies *Vibrio* sp. seperti *V. alginolyticus*, *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* juga ditemukan di perairan pantai di sentra budidaya ikan kerapu dan bandeng di Bali Utara (Mahardika et al., 2021). *V. parahaemolyticus* menginfeksi dan menyebabkan ikan kerapu sakit dengan gejala perut bengkak, keras, anus coklat, hepar pucat, usus bengkak, pergerakan lambat, nafsu makan menurun, ginjal bengkak, haemoragik pada usus serta terdapat luka pada kulit (Hurriyah et al., 2015). *V. parahaemolyticus* juga dilaporkan berbahaya bagi kesehatan manusia. Jika manusia mengkonsumsi makanan mentah dari laut yang

telah terkontaminasi oleh bakteri tersebut maka akan muncul tanda-tanda yakni seperti mengalami muntah, terserang diare, kepala menjadi sakit, kram perut dan demam rendah (Naufizdihar et al., 2022).

Penanggulangan terhadap infeksi bakteri dapat dilakukan dengan melakukan pencegahan serta pengobatan pada budidaya ikan. Cara yang dapat dilakukan untuk melakukan pencegahan yakni pemberian pakan yang baik sesuai kuantitas dan kualitas, menjaga kualitas air, pemberian probiotik atau immunostimulan dan vaksin. Kemudian penggunaan pada bahan kimia dapat menjadi solusi untuk memberikan pengobatannya. Pengobatan menggunakan obat yang berbahan kimia akan mampu menjadi obat apabila dosis yang diberikan tepat, tetapi hal sebaliknya dapat terjadi bila pemberiannya tidak pada dosis yang tepat yang dapat mengakibatkan komoditas laut yang dibudidayakan sangat berbahaya jika manusia mengonsumsinya dan dapat mencemari lingkungan (Lukistyowati & Kurniasih, 2011). Selain itu penggunaan secara jangka panjang akan dapat membawa dampak yang buruk dari penggunaan antibiotik tersebut yang mengakibatkan strain bakteri resisten terhadap antibiotik tersebut (Siti et al., 2014)

Saat ini pemakaian antibakterial dari bahan alami mulai dikembangkan. Penggunaan bahan herbal tradisional ialah biji pala (*Myristica fragrans Hout*) dimana di ketahui mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, fenol, tannin, minyak atsiri yang dapat berfungsi sebagai antivirus dan antibakteri (Suloi & Suloi, 2021). Ekstrak biji pala banyak digunakan sebagai antimikroba pada makanan, seperti dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* (Afriyansari et al., 2017); (Arrizqiyani et al., 2017), *Staphylococcus aureus* (Atmaja et al., 2017), *Shigella dysenteriae* (Ayunani et al., 2018), *Pseudomonas aeruginosa* (Ifriana & Kumala, 2018), serta *Streptococcus pyogenes* (Atmaja et al., 2017). Namun, aplikasi ekstrak biji pala dalam menghambat pertumbuhan bakteri perairan maupun bakteri patogen pada ikan budidaya banyak yang belum dilakukan pelaporan. Maka dilakukan sebuah pengujian uji eektivitas ekstrak biji pala terhadap bakteri yang bersifat patogen pada budidaya komoditas ikan laut. Adapun capaian yang diinginkan dari pengujian ini ialah untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Hout*) terhadap daya hambat *V. parahaemolyticus*. Kemudian untuk mengetahui konsentrasi yang efektif dari ekstrak biji pala terhadap pertumbuhan *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Metode Penelitian

Pengujian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi, Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan (BBRBLPP), yang terletak di Desa Gondol, Bali tepatnya pada waktu 10 Februari - 1 April 2022.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu timbangan digital, gunting, blender, botol kaca, inkubator, kamera, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), cawan petri, gelas kimia, gelas ukur, penggaris, jarum ose, aluminium foil, oven, kaca slide, pipet volume, pinset, bunsen, *drigalsky*, tabung reaksi, tabung durham, kertas saring, dan corong. Adapun bahan yang digunakan adalah biji pala, etanol 96%, alkohol 70%, media TSA, media NA, media Glukosa, media Sukrosa, media Laktosa, larutan PBS, 1 oksidase discs.

Isolat Bakteri

Isolat bakteri pada pengujian ini yang digunakan ialah *Vibrio Parahaemolyticus* yang ditemukan pada sentra budidaya KJA yang berada di Bali Utara dan menjadi isolat bakteri dari

kolleksi BBRBLPP dengan kode: Kb_Alk_52 (Mahardika et al., 2021). Isolat bakteri tersebut ditumbuhkan kembali dalam media TSA (*Trypticase Soy Agar*) untuk digunakan sebagai uji zona hambat.

Pembuatan Ekstrak Biji Pala dengan Metode Maserasi

Buah pala segar diperoleh dengan membeli secara daring. Selanjutnya dilakukan pemisahan dengan bijinya. Pada penelitian ini yang digunakan hanya biji pala. Biji pala di potong kecil-kecil kemudian di belender hingga halus. Biji pala yang sudah di haluskan kemudian dipisah 150 g dan diberi 96% etanol yang terlarut sebanyak 600ml (1:4). Larutan ekstrak biji pala tersebut di simpan di dalam botol kaca steril dan ditempatkan pada suhu ruang (29-32 °C) selama 3 hari. Selanjutnya, pelarut dengan ampas dipisahkan dengan cara di saring menggunakan kertas saring. Larutan ekstrak biji pala diuapkan menggunakan oven pada suhu 36°C selama satu minggu sehingga memperoleh ekstrak kental atau minyak biji pala.

Media TSA

Media TSA dibuat dari 12 gr media serbuk TSA, dan 6 g garam (NaCl) dan 300 ml aquades. Semua bahan dicampur dalam erlenmeyer steril volume 500 ml dan dihomogenkan dengan *hot plate stirrer*. Media tersebut selanjutnya dilakukan pensterilan pada autoklaf di 121 °C 1 atm dalam 15 menit. TSA didinginkan dalam *laminar air flow cabinet* (clean bench) dan didistribusikan ke 12 cawan petri steril. Kemudian didiamkan selama 2,5 – 3 jam sampai media memadat. Media TSA padat selanjutnya di plastik wrap dan disimpan dalam refrigerator atau kulkas sampai digunakan.

Seri Konsentrasi Larutan

Ekstrak biji pala hasil proses maserasi merupakan ekstrak biji pala dengan konsentrasi 100%. Seri konsentrasi ekstrak biji pala dibuat dengan rumus $V1.C1 = V2.C2$. Ekstrak biji pala dilarutkan dengan akuades steril untuk memperoleh variasi konsentrasi (w/v) yang diinginkan yaitu 5%, 10%, 20%, dan 40%. Adapun rumus untuk mengetahui persentase dilakukan dengan rumus berikut:

$$\% \text{ massa-volume} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\text{volume larutan}} \times 100\%$$

Uji daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans* Hout) terhadap *V. parahaemolyticus*

Metode uji aktivitas antibakteri ini memakai difusi cakram. Kertasnya yang dipakai ialah yaitu *filter paper disc* diameter 6 mm yang dibuat dari *filter paper* (Whatman 42) dan telah disterilkan. Isolat bakteri *V. parahaemolyticus* stok dibagian daerah yang miring diambil dengan jarum *ose* dan dicampur pada 1 ml air laut steril. Larutan bakteri tersebut dihomogenkan dengan pipetting dan mixer. Sebanyak 100 µl suspensi *V. parahaemolyticus* ditetaskan pada media TSA dan diratakan menggunakan *drigalsky*. Selanjutnya, masing-masing sebanyak 15 µL ekstrak biji pala dengan konsentrasi berbeda ditetaskan pada *filter paper disc*. Kontrol positif yang digunakan adalah erythromycin (antimicrobial susceptibility test discs, Oxoid), sedangkan pengontrolan secara negatifnya memakai aquades yang ditetaskan pada *paper disc* yang sama dengan ekstrak biji pala. *Paper disc* tersebut didiamkan selama 5 menit pada cawan petri steril. *Paper disc* yang telah ditetesi ekstrak biji pala dan akuades serta *disc* erythromycin ditempatkan di atas media TSA yang sebelumnya telah ditebar *V parahaemoliticus* secara merata. Setiap satu media TSA ditempatkan 4 *paper disc*. Masing-masing perlakuan menggunakan 5 *paper disc* (5 kali ulangan *paper disc*) dalam media TSA berbeda. Media tersebut di diamkan 24 jam pada suhu 35°C.

Identifikasi bakteri melalui Uji Biokimia

Uji Pewarnaan Gram

Pengambilan koloni bakteri memakai jarum ose kemudian diletakkan pada kaca slide serta ditetesi dengan *otsuka sterilized water*. Preparat tersebut di fiksasi di atas nyala api. Preparat diwarnai dengan gentian violet (reagensia 1) selama 30 detik dan dilakukan pembilasan pada air mengalir. Preparat selanjutnya dibilas dengan alkohol 70% sampai warna tidak luntur lagi dan dibilas dengan air mengalir. Kemudian dikeringanginkan beberapa saat pada suhu ruang. selanjutnya diwarnai lagi dengan lugol (reagensia 2) 30 detik serta dilakukan pembilasan menggunakan air yang mengalir. Kemudian kembali diwarnai memakai basic fuchsin (reagensia 3) selama 60 detik dan dibilas menggunakan air mengalir. Preparat tersebut selanjutnya diamati dibawah mikroskop binokuler (Panjaitan *et al.*, 2020).

Uji Motilitas

Pengambilan biakan bakteri memakai jarum ose dan diinokulasi secara vertikal di NA Media serta di inkubasi 24 jam kedalam inkubator pada 37°C. pengamatan dari pertumbuhan dari bakteri ditandai dengan adanya pertumbuhan pada medium dan tidak ada bekas pada tusukan atau bakteri menyebar (positif) sedangkan bakteri yang menunjukkan pada permukaan medium tumbuh pada tusukan berarti negatif (Panjaitan *et al.*, 2020).

Uji Fermentasi

Uji fermentasi menggunakan media phenol red glukosa broth, phenol red laktosa broth dan phenol red sukrosa broth. Media diseterilisasi pada suhu 21°C 1 atm dalam 15 menit. Masing-masing media yang dituangkan 7 ml ke masing-masing tabung. Selanjutnya ke dalam tabung reaksi dimasukkan tabung durham untuk mengetahui apakah bakteri memproduksi gas. Inokulasi bakteri kedalam masing-masing media menggunakan jarum ose. Inkubasi 24 jam ke dalam inkubator pada 37°C untuk melihat warna yang berubah (Panjaitan *et al.*, 2020).

Uji Oksidase

Bakteri diinokulasi pada TSA dan dilakukan inkubasi kedalam inkubator selama 24-48 jam. Selanjutnya ke dalam media yang telah ditumbuhi bakteri tersebut diletakkan paper oksidase dan dilakukan pengamatan (Panjaitan *et al.*, 2020).

Uji Katalase

Pengambilan bakteri memakai jarum ose dan diletakkan dalam kaca slide steril. Selanjutnya ditetesi cairan hydrogen peroksida. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung, sedangkan reaksi negatif tidak ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung (Panjaitan *et al.*, 2020).

Parameter Penelitian

Parameter yang dilakukan dalam penelitian ini adalah mengukur diameter zona hambat ekstrak biji pala terhadap pertumbuhan *V. parahaemolyticus* serta uji biokimia bakteri *V. parahaemolyticus*. Data yang diambil merupakan data primer.

Analisis Data

Analisis data dan pengolahan untuk menghitung pengaruh perbedaan konsentrasi menggunakan uji *One Way Analysis of Variant* (ANOVA). Selanjutnya dilakukan dengan uji

Post Hoc dengan Bnt (LSD) untuk mengetahui adakah perbedaan yang berarti dari tiap-tiap perlakuan uji ekstrak biji pala dengan perbedaan konsentrasinya.

HASIL

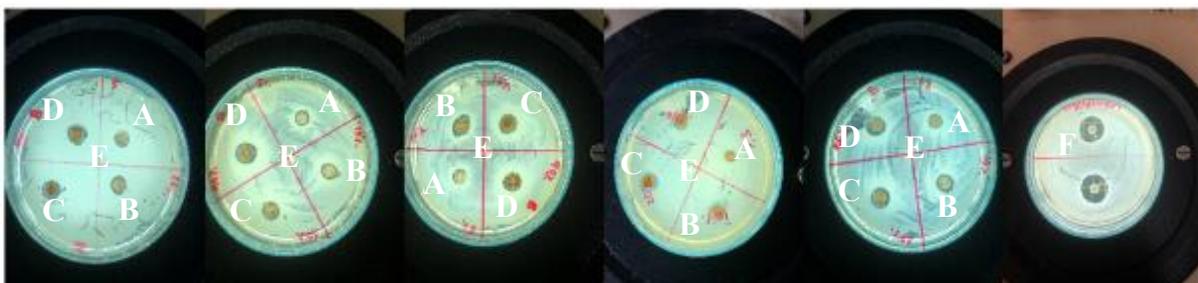
Hasil amatan mengenai daya hambat dari ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Hout*) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menunjukkan adanya zona hambat atau zona jernih di sekitaran *paper disc* dengan diameter yang berbeda (Tabel 1). Pada perlakuan kontrol negatif (akuades) tidak terbentuk zona hambat pada sekitaran *paper disc*.

Tabel 1. Diameter zona hambat dari ekstrak biji pala terhadap pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)						Rata-rata	Kreteria kekuatan antibakteri (Utami, 2017)
Akuades (kontrol negatif)	0	0	0	0	0	0	0	Lemah
Biji pala 5%	7,5	8	7	6	8	7,3	7,3	Sedang
Biji pala 10%	8,5	8,5	9,5	9,5	9	9,0	9,0	Sedang
Biji pala 20%	9	9	10,5	10,5	10	9,8	9,8	Sedang
Biji pala 40 %	10	11,5	11	11	10,5	10,8	10,8	Kuat
Erythromycin (kontrol positif)	19	19	19,5	20	20	19,5	19,5	Kuat

Tabel 1, memperlihatkan bahwasanya ekstrak biji pala pada konsentrasi 5% hingga 40%, mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*, walaupun masih lebih rendah dibandingkan dengan antibiotik erythromycin. Sementara pada perlakuan kontrol negatif (akuades) memperlihatkan tidak terbentuknya zona hambat pada sekitaran *paper disc*. Hal tersebut menunjukkan bahwasanya akuades sebagai bahan pelarut dari ekstrak biji pala tidak mempunyai pengaruh antibakteri. Menurut (Utami, 2017), kreteria kekuatan antibakteri dibedakan menjadi daya hambat rendah (zona hambat 0-5 mm), daya hambat sedang (zona hambat 5-10 mm), daya hambat kuat (zona hambat 10-20 mm) serta daya hambat sangat kuat (zona hambat >20 mm). Berdasarkan kreteria tersebut maka ekstrak biji pala pada konsentrasi 5% hingga 20% memiliki kreteria kekuatan antibakteri yang sedang (7,3 – 9,8 mm). Sedangkan ekstrak biji pala konsentrasi 40% memiliki kreteria kekuatan antibakteri yang kuat, dan memiliki kesamaan dengan erythromycin.

Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak biji pala tampak jelas memperlihatkan adanya zona bening disekitar *paper disc* dan sama dengan zona bening yang dihasilkan oleh erythromycin (Gambar 1). Hasil tersebut memperlihatkan bahwasanya ekstrak biji pala dan erythromycin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*.



Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk pada koloni bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan beberapa perlakuan yaitu: ekstrak biji pala konsentrasi A). 5%, B). 10%, C). 20%, D). 40%, kontrol negatif (E) dan kontrol positif (F) dengan masing-masing 5 kali ulangan *paper disc*.

Hasil analisa anova dengan tingkat kepercayaan 95% memperlihatkan adanya perbedaan zona hambat dari masing-masing perlakuan ($P < 0,05$) seperti tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata zona hambat dari ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Hout*)

Perlakuan	Rata-rata zona hambat ($P < 0,05$)	
Biji pala 5%	7,3±0,84	a
Biji pala 10%	9,0±0,50	b
Biji pala 20%	9,8±0,76	b
Biji pala 40%	10,8±0,57	c
Erythromycin	19,5±0,5	d

Keterangan. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menyatakan bahwasanya tidak ada perbedaan nyata.

Ekstrak biji pala konsentrasi 5% mempunyai nilai rata-rata zona hambat yang paling rendah dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak biji pala lainnya. Nilai rata-rata zona hambat melonjak 2 angka (7,3±0,84 mm ke 9,0±0,50) dan dengan statistik memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), tetapi dari konsentrasi ekstrak biji pala yang 10% ke konsentrasi 20% kenaikannya sangat kecil (0,8 mm) sehingga secara statistik tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Nilai rata-rata zona hambat dari ekstrak biji pala pada konsentrasi 20% ke konsentrasi 40% memperlihatkan kenaikan yang signifikan ($P < 0,05$). Nilai rata-rata zona hambat dari ekstrak biji pala konsentrasi 40% masih lebih rendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan erythromycin

Bedasarkan hasil uji biokimia memperlihatkan bahwasanya bakteri *V. parahaemolyticus* termasuk kedalam bakteri gram negatif, berbentuk batang koma, bersifat motil (bergerak), mampu memproduksi enzim katalase dan oksidase, serta mampu memfermentasikan glukosa, sukrosa dan laktosa (Tabel 3). Temuan ini senada dengan temuan penelitian terdahulu yang dilaksanakan oleh (Feriandika et al., 2014) yang mengungkapkan bahwasanya *V. parahaemolyticus* termasuk gram negatif, berbentuk batang, positif pada uji oksidase, katalase dan fermentasi.

Tabel 3. Hasil uji biokimia bakteri *V. parahaemolyticus*

Gram	Motilitas	Fermentasi			Oksidase	Katalase
		Glukosa	Laktosa	Sukrosa		
Negatif (bentuk batang koma)	+	+	+	+	+	+

PEMBAHASAN

Hasil uji daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Hout*) pada konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% terhadap pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* dengan metode difusi cakram diperoleh bahwasanya ekstrak biji pala dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. Parahaemolyticus*. Zona hambat yang terbentuk diakibatkan oleh seberapa besar konsentrasi ekstrak biji pala yang digunakan, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak biji pala maka zona hambat yang terbentuk juga semakin besar. Menurut (Ifriana & Kumala, 2018), ekstrak biji pala mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak biji pala sehingga semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Efektivitas ekstrak buah pala dalam pakan dilaporkan dapat memberikan nilai yang baik pada

tingkat pertumbuhan ikan mas koi (*Cyprinus carpro*) (Yanti *et al.*, 2020). Oleh karena itu, perlu dilakukan uji lanjutan efektivitas dari ekstrak biji pala tersebut terhadap ikan kerapu (*in vivo*) yang terserang penyakit *V. Parahaemolyticus*, dan pengaruhnya terhadap kelangsungan hidup ikan kerapu.

Bakteri *V. parahaemolyticus* ialah bakteri gram negatif yang memiliki sifat motil atau bergerak, halofilik, berbentuk bengkok atau koma, menghasilkan energi untuk pertumbuhan dengan oksidasi, fakultatif anaerob serta memiliki flagelum kutub tunggal dan tidak dapat membentuk spora. Bakteri ini sering dijumpai pada air payau, pantai dan laut (Kusmarwati *et al.* 2020). Menurut (Ifriana & Kumala, 2018), bakteri gram negatif mempunyai dinding sel yang tebal berupa peptidoglikan, yang terletak diantara membran dalam dan membran luarnya, sehingga zona hambat yang dihasil dari uji ekstrak biji pala masuk dalam kategori lemah. Tetapi pada penelitian ini memperlihatkan temuan yang berbeda, yang mana ekstrak biji pala pada konsentrasi 5%, 10% dan 20% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* masuk dalam golongan sedang. Bahkan ekstrak biji pala pada konsentrasi 40% masuk ke golongan kuat. Hasil tersebut memperlihatkan bahwasanya ekstrak biji pala efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*.

Sifat fisiko-kimia, minyak atsiri yang terkandung dalam biji pala memiliki rerata rendemen sebesar 2,13%. Minyak atsiri tersebut memiliki 18 komponen kimia, diantaranya safrole, limonene, serta terpineol (Tamioyi *et al.*, 2015). Kemampuan ekstrak biji pala dalam menghambat bakteri disebabkan karena adanya senyawa antibakteri yang ada pada biji pala. Beberapa senyawa antibakteri pada biji pala yaitu alkaloid, flavanoid, fenol, saponin dan tanin (Atmaja *et al.*, 2017).

Alkaloid memiliki mekanisme menjadi antibakteri melalui cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, maka lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh serta mengakibatkan kematian sel (Kurniawan & Aryana, 2015). Cara kerja senyawa flavanoid, saponin dan tanin menjadi antibakteri melalui cara membentuk senyawa kompleks dengan mengganggu keutuhan membran sel bakteri sehingga mengakibatkan kebocoran protein serta enzim di dalam sel dan serta merusak membran sitoplasma (Ngajow *et al.*, 2013). Sedangkan, senyawa terpenoid juga diketahui menjadi senyawa antibakteri melalui cara memecah membran oleh komponen-komponen lopofilik (Ngajow *et al.*, 2013). Dilain itu biji pala juga memiliki kandungan minyak atsiri yang berperan dalam menghambat pembentukan membran ataupun dinding sel bakteri maka tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Afriyansari *et al.*, 2017).

Pelarut dalam proses ekstraksi merupakan faktor yang sangat penting terhadap proses ekstraksi bahan alami. Pelarut memiliki kemampuan selektivitas yang berbeda untuk melarutkan komponen aktif dari bahan (Jen, 2018). Senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol karena etanol merupakan pelarut yang aman dan memiliki tingkat ketoksikan yang rendah. Etanol merupakan pelarut universal yang dapat menyari ataupun mengekstrak senyawa baik yang memiliki sifat polar atau semi polar, tidak beracun, bisa tercampur dengan air, serta panas yang dibutuhkan untuk penguapan lebih sedikit (Irawan *et al.*, 2014). Ekstrak biji pala dengan menggunakan pelarut etanol 96% memiliki kadar flavanoid dan fenolik lebih tinggi dari ekstrak biji pala menggunakan pelarut metanol (Akmalina, 2016).

KESIMPULAN

Dari temuan penelitian ini tersimpulkan bahwasanya ekstrak biji pala (*Myristica fragrans* Hout) dengan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% mempunyai daya hambat terhadap

pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*. Semakin besar konsentrasi ekstrak biji pala maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar.

Namun perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak biji pala tersebut secara *in vivo* terhadap kelangsungan hidup ikan budidaya laut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan rasa terimakasih diberikan kepada seluruh pihak yang terlibat pada penelitian ini. Diucapkan terima kasih juga kepada peneliti, teknisi dan staf pegawai Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan (BBRBLPP) Gondol, khususnya di Laboratorium Patologi, yang telah banyak membantu, membimbing serta memberikan fasilitas sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriyansari, W. D., Pestariati, & Arifin, S. (2017). Daya Hambat Ekstrak Biji Pala (*Myristica fragrans*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Analisis Kesehatan SAINS*, 6(2), 512–518.
- Akmalina, M. A. (2016). *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Serta Penilaian Risiko Dengan Metode Margin Of Exposure (MOE) Senyawa Alkenilbensena Pada Ekstrak Rempah Adas (Foeniculum vulgare Mill.), Biji Pala (Myristica fragrans Houtt), Jeringau (Acorus calamus)*. Universitas Brawijaya.
- Arrizqiyani, T., Sonjaya, N., & Asty, A. (2017). Optimalisasi Potensi Tanaman Pala Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* Menggunakan Metode Ekstraksi. *Implementasi Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat Untuk Peningkatan Kekayaan Intelektual*, 30(9), 375–382.
- Atmaja, T. H. W., Mudatsir, & Samingan. (2017). Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah pala (*Myristica fragrans*) terhadap daya hambat *Staphylococcus aureus*. *Jurnal EduBio Tropika*, 5(4), 1–8.
- Atmaja, Teuku H, W., Mudatsir, & Samingan. (2017). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pala (*Myristica fragrans*) Terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *Jurnal EduBio Tropika*, 5(4), 1–8.
- Ayunani, T. D., Hastuti, I. T., Ansory, H. M., & Nilawati, A. (2018). Pemisahan Senyawa 1, 4-terpineol dan Safrol dari Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica Fragrans Houtt*) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Shigella dysenteriae* Separation of 1, 4-Terpineol and Safrol from Nutmeg Seed Essential Oil (*Myristica Fragrans*). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1), 88–99.
- Ferriandika, F. B., Sarjito, & Prayitno, S. B. (2014). Identifikasi Agensia Penyebab Vibriosis Pada Penggemukan Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) Di Pematang. *Aquaculture Management and Technology*, 3(2), 126–134.
- Hurryah, M., Hilyana, S., & Mukhlis, A. (2015). Penggunaan ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* untuk meningkatkan kelangsungan hidup ikan kerapu bebek *Cromileptes altivelis* terhadap serangan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Perikanan Unram*, 7, 23–29.
- Ifriana, F. N., & Kumala, W. (2018). Pengaruh ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Biomedika Dan Kesehatan*, 1(3), 172–178. <https://doi.org/https://doi.org/10.18051/JBiomedKes.2018.v1.172-178>
- Ilimiah, Sukenda, Widanarni, & Harris, E. (2012). Isolasi dan karakterisasi *Vibrio* patogen pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Isolation and characterization of

- pathogenic *Vibrio* on tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 11(1), 28–37.
- Irawan, H., Agustina, E. F., & Tisnadjaja, D. (2014). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Profil Kromatogram Dan Kandungan Senyawa Kimia Dalam Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L*) Dan Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta L.*). *Pulsit Bioteknologi LIPI*, 2(4), 40–45.
- Ismi, S., Nirmala, Y., & Kusumawati, D. (2014). Peningkatan Produksi dan Kualitas Benih Kerapu dengan Program Hybridisasi Improvement of Seed Production and Quality of Grouper by Hybridization. *Jurnal Oseanologi Indonesia*, 1(1), 1–5.
- JEN, M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut Dan Lama Waktu Ekstraksi Dengan Metode Ultrasonic Bath Terhadap Karakteristik Kimia Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Serta Aplikasinya Dalam Produk Hard Candy. Universitas Katolik Soegijapranata.
- Kurniawan, B., & Aryana, W. F. (2015). Binahong (*Cassia Alata L*) As Inhibitor Of *Escherichia Coli* Growth. *J Majority*, 4(4), 100–104.
- Kusmarwati, A., Andayani, F., & Yennie, Y. (2020). Prevalensi *Vibrio Parahaemolyticus* Pada Udang Vaname Di Unit Pengolahan Ikan Jawa Tengah Dan Jawa Timur Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in Whiteleg Shrimp at Fish Processing Units in Central Java and East Java. *JPB Kelautan Dan Perikanan*, 15(1), 21–31.
- Lukistyowati, I., & Kurniasih. (2011). Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*) Yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Dan Infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 16(1), 144–160.
- Mahardika, K., Mastuti, I., Septory, R., Roza, D., Zafran, & Nasukha, A. (2021). Pola Fluktuasi Populasi Bakteri Di Perairan Pantai Dan Teluk Pada Sentra Budidaya Ikan Laut Di Bali Utara. *Riset Akuakultur*, 16(1), 49–59.
- Mulyani, S., Hadijah, & Hitijahubessy, B. (2021). *Budidaya ikan kerapu* (A. Jumain (ed.)). Pusaka Almaida.
- Nasi, L., Prayitno, S. B., & Sarjito. (2011). *Kajian Bakteri Penyebab Vibriosis pada Udang Secara Biomolekuler*. 19(19).
- Naufizdihar, N. A., Adji, A. S., Studi, P., Dokter, P., Kedokteran, F., Tuah, U. H., Scholar, G., & Direct, S. (2022). Potensi Ekstrak *Moringa oleifera* Untuk Mengatasi *Gastroenteritis Bakteri* Pemanfaatan herbal dalam tindakan preventif, kuratif, dan rehabilitatif penyakit gastrointestinal pada komunitas agrikultur. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 9(4), 54–63.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
- Novriadi, R., Agustatik, S., Hendrianto, Pramuanggit, R., & Wibowo, A. H. (2014). *Penyakit Infeksi Pada Budidaya Ikan Laut di Indonesia* (Issue February).
- Panjaitan, F. J., Bachtar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., & Indriyani, W. (2020). Karakteristik Mikroskopis Dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) Dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Ilmu Pertanian Dan Lingkungan*, 1(1), 11–12.
- Siti Nurjanah, Prayitno, S. B., & Sarjito. (2014). Sensitivitas Bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. Yang Diisolasi Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sakit Terhadap Berbagai Macam Obat Beredar Bacteria. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(4), 308–316.
- Suloi, A. F., & Suloi, A. N. F. (2021). Bioaktivitas Pala (*Myristica fragrans Houtt*): Ulasan Ilmiah. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 3(1), 11–18.
- Tamioyi, O., Sunarta, S., & Pujiarti, R. (2015). Pengaruh Perbedaan Bagian Biji Terhadap Sifat Fisiko-Kimia, Komposisi Kimia Dan Antioksidan Minyak Atsiri Pala (*Myristica*

- fragrans Hout) *Dari Pulau Seram, Maluku*. Universitas Gadjah Mada.
- Utami, N, A. (2017). *Uji Daya Hambat Bakteriostatik Dari Ekstrak Tomat (Lycopersicon esculentum Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Epidermidis*. Universitas Sanata Dharma.
- Yanti, N., Budi, S., & Mardiana. (2020). Sintasan Ikan Mas Koi *Cyprinus carpio* Pada Dosis Berbeda Effect of Extract of Nutmeg *Myristica argantha* on Growth And Survival of Carp *Cyprinus carpio* at Different. *J. of Aquac. Environment*, 3(1), 19–22.