



Essential Oil Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) From Garut West Java

Diki P. Wibowo*, Yessi Febriani, Hesti Riasari, Diah L. Aulifa

Department of Pharmaceutical Biology, Indonesia School of Pharmacy, Bandung, Indonesia

Submitted 09 March 2018; Revised 25 June 2018; Accepted 09 July 2018, Published 01 October 2018

*Corresponding author: diki1310@gmail.com

Abstract

West Java is rich in essential oil-producing plants, essential oils known to be responsible for some pharmacological activities among its antioxidant and antimicrobial. This research aims to know antimicrobial, antioxidant activity and identify the components of a compound essential oil of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.). Components chemistry identified with GC-MS (Gas Chromatography-Mass spectrometer). Antioxidant activity measured by using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) at λ 516 nm wavelength absorbance. Antimicrobial activity determined Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) using microdilution method. The result of GC-MS showed the highest component on nutmeg containing 22.22% myristicin. The antioxidant test showed nutmeg had IC_{50} at 3,16%, essential oil showed antibacterial activity against Gram positive and Gram negative bacteria. Minimum inhibitory concentrations of essential oils range from 0.313% to 10%. The content of essential oils of nutmeg plants that grow in the area of West Java Garut can be used to overcome the problems of antioxidants and antimicrobial.

Keywords: Antioxidant, antibacterial, chemical composition, pala (*Myristica fragrans* Houtt.).

Komposisi Minyak Atsiri, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) Dari Garut Jawa barat

Abstrak

Jawa Barat kaya akan keanekaragaman hayati penghasil minyak atsiri, yang diketahui bertanggung jawab terhadap beberapa aktivitas farmakologi diantaranya antioksidan dan antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, antimikroba dan mengidentifikasi komponen senyawa minyak atsiri Pala (*Myristica fragrans* Houtt.). Minyak atsiri di isolasi dengan metode destilasi uap air dan komponen kimianya diidentifikasi dengan KG-SM (Kromatografi Gas – Spektrometri Massa). Antioksidan diukur dengan menggunakan metode DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan absorbansi pada panjang gelombang λ 516 nm dan aktivitas antimikroba dilakukan dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan menggunakan metode mikrodilusi. Hasil KG-SM menunjukkan komponen tertinggi pada pala mengandung Miristisin 22, 22 %. Uji antioksidan menunjukkan pala memiliki nilai IC_{50} sebesar 3,16%, minyak esensial menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Konsentrasi hambat minimum dari minyak esensial berkisar antara 0,313 % sampai 10%. Kandungan minyak atsiri tanaman pala yang tumbuh di daerah Garut Jawa Barat dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan antioksidan dan antimikroba.

Kata Kunci: Antioksidan, antibakteri, komposisi kimia, pala (*Myristica fragrans* Houtt.).

1. Pendahuluan

Myristica fragrans Houtt. dari suku Myristicaceae, yang dikenal sebagai Pala di Indonesia telah digunakan secara tradisional untuk rempah-rempah dan obat-obatan untuk meningkatkan sistem imun dan radioprotektif¹, antidiabetes², antikonvulsan, antimoluska³, hepatoprotektif⁴, antikarsinogen⁵, aprodisiak⁶, antidepresan⁷, antioksidan^{8,9}, antimikroba.^{10,11,12}

Konstituen utama Pala (*M. fragrans* Houtt) telah ditemukan sebagai turunan alkil benzena (miristin, elemisin, safrol dll.), Terpen, α -pinene, β -pinene, asam myristat dan trimiristin. Pala mengandung sekitar 10% minyak esensial, yang sebagian besar terdiri dari hidrokarbon terpen (sabinena dan pinena), kampen, peptida, pellantren terpinen, limonen, mirsen, berkisar 60 sampai 80%), turunan terpen (linalool, geraniol, terpineol, 5 sampai 15%) dan turunan fenilpropanoid (miristin, elemisin, safrol, dan eugenol, bersama-sama 15 sampai 20%).¹²

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan, antimikroba dan mengidentifikasi komponen senyawa minyak atsiri buah pala, untuk kemungkinan pemanfaatannya sebagai obat-obatan, pengawet makanan, seperti nutraceuticals dan aplikasi terapeutik.

2. Metode

2.1. Bahan tumbuhan

Buah Pala (*M. fragrans* Houtt) dikumpulkan dari daerah Pamalayan Kecamatan Cisewu, Garut. Destilasi minyak atsiri dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Obat dan Tanaman Aromatik (BALITTRO), Manoko, Lembang, Jawa Barat. Spesies diidentifikasi di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi Universitas Padjadjaran dengan no specimen 123/HB/03/2017.

2.2. Isolasi minyak atsiri

Biji buah pala (*M. fragrans* Houtt) di isolasi menggunakan alat destilasi uap dan air selama 3 jam. Minyak atsiri yang dihasilkan kemudian disimpan pada suhu 4°C sampai digunakan untuk analisis.

2.3. Analisis kromatografi Gas – Spektrometri massa (KG–SM)

Komposisi minyak atsiri ditentukan dengan menggunakan kromatografi gas Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra. Suhu oven dimulai pada suhu 60°C. Suhu injektor dan detektor masing-masing diatur 280°C. Analisis dilakukan dengan menggunakan helium sebagai gas pembawa pada laju alir 1, 31 mL/menit. Aliran total 264, 7 mL/menit, tekanan 80,2 kPa, Kecepatan linear 41,7 cm/sec, aliran Pureg 2,0 mL/menit dan rasio split 200. MS dilengkapi dengan sumber ion suhu 230°C, waktu antar muka 250°C, detektor mode gain mutlak dan detector mendapatkan 0,80 kV.

2.4. Aktivitas Antioksidan (Peredaman radikal bebas DPPH)

Metode yang digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Pengenceran terhadap ekstrak metanol menghasilkan deret konsentrasi yang berbeda yang kemudian masing-masing konsentrasi dicampur dengan volume larutan metanol DPPH dengan volume yang sama (0,004% b/v).

Setelah 30 menit masa inkubasi pada suhu kamar, absorbansi dibaca pada panjang gelombang λ 517 nm. Penghambatan radikal bebas oleh DPPH dalam persen (P %) dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\% \text{ Penghambatan} = (AC - AS / AC) \times 100$$

Dimana AC adalah absorbansi reaksi kontrol (mengandung volume larutan DPPH dan metanol yang sama tanpa sampel), dan AS adalah absorbansi sampel (minyak esensial dan standar).

2.5. Aktivitas antimikroba

Aktivitas antibakteri minyak atsiri dievaluasi dengan menggunakan metode mikrodilusi dan diuji terhadap 6 bakteri.

Empat bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Bacillus cereus* ATCC11778 dan MRSA. Dua bakteri gram

negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027, dan *Escherichia coli* ATCC8939. Bakteri ini diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Institut Teknologi Bandung, Indonesia, dan semua strain dikultur pada suhu 37°C pada media Mueller-Hinton Agar.

2.6. Bahan

Bahan yang di gunakan adalah buah Pala (*M. fragrans* Houtt), aquadest, Vitamin C, DPPH, metanol pro analisis, Mueller-Hilton Broth (MHB), Mueller-Hilton Agar (MHA).

3. Hasil

Kromatogram hasil analisis KG-SM menunjukkan kandungan minyak atsiri dari pala, hasil dapat dilihat pada Gambar 1.

3.1. Komposisi Minyak Atsiri

Hasil uji komposisi minyak atsiri hasil KG-SM Pala (*Myristica fragrans*) yang dihasilkan dengan cara destilasi uap dan air ditunjukkan pada Tabel 1.

3.2. Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan % Inhibisi, yang kemudian dibuat regresi linier untuk menghitung IC_{50} . Data dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Hasil perhitungan persamaan kurva regresi linier perhitungan antioksidan dengan metode peredaman DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.

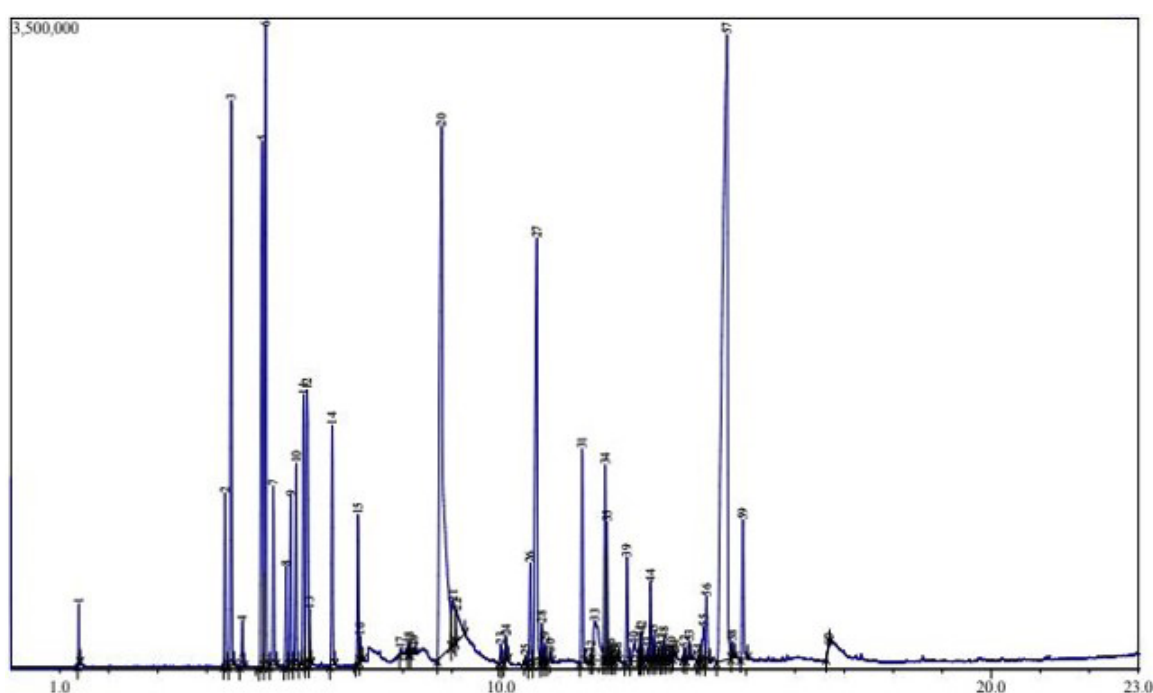
3.3. Aktivitas Antimikroba

Hasil uji aktivitas antimikroba dengan menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) menggunakan metode mikrodilusi dapat dilihat pada Tabel 3.

4. Pembahasan

Sebanyak 60 komponen diidentifikasi dari minyak atsiri pala (*M. fragrans* Houtt). Jumlah seluruhnya komposisi kimia minyak atsiri di berikan pada Gambar 1.

Konstituen utama minyak atsiri Pala adalah miristicin (22,22%), 4-terpineol (14,45%), safrol (6,94%), sabinen (5, 87%), α -pinene (5,45%), δ -limonen (3, 88%) dan komponen minor lainnya (Tabel 1). Minyak atsiri adalah metabolit sekunder tanaman. Profil kandungan kimia minyak atsiri cenderung menunjukkan sifat kimia yang berbeda, yang disebabkan oleh faktor ekologi, kondisi geografis, umur dan waktu panen tanaman, perbedaan sifat kimiawi akan terjadi memiliki efek pada aktivitas biologis untuk menghasilkan seragam aktivitas



Gambar 1 Profil Kromatografi KG-SM dari *Myristica fragrans*

Tabel 1 Hasil Identifikasi minyak atsiri dari buah Pala (*M. fragrans*) dengan menggunakan KG-SM

No	Komponen Kimia	Pala (%)
1	Etanol	0,31
2	α -Thujena	1,37
3	α -Pinena	5,45
4	Kamfen	0,42
5	Sabinena	6,98
6	2- β -Pinena	7,1
7	β -Mirsena	1,43
8	1-Felandren	0,82
9	δ 3-Karena	1,39
10	α -Terpinena	1,75
11	p-Simena	2,62
12	δ -Limonena	3,88
13	1,8-Sineol	0,34
14	Gamma.-Terpinena	2,24
15	α -Terpinolen	1,31
16	Benzene, 1-Isopropenil	0,22
17	Siklobutena	0,13
18	Epoksiterpinolen	0,1
19	Sitronella	0,07
20	4-Terpineol	14,45
21	3-Sikloheksana-1-metanol, .alpha.,.alpha.,4-trimetil	1,07
22	3-Sikloheksana-1-metanol, .alpha.,.alpha.,4-trimetil	0,91
23	Linaliil Asetat	0,19
24	Piperitone	0,26
25	β -Terpinil Asetat	0,06
26	Endobornil Asetat	0,96
27	Safrol	6,94
28	4-Terpinenil asetat	0,39
29	Benzena, 1-metoksi-4-pentil	0,18
30	Ascaridole	0,12
31	α - Terpinenil Asetat	2,15
32	Neril Asetat	0,07
33	3-Allil-6-metoksipenol	1,56
34	α -Kubebena	2,02
35	Geranil asetat	1,14
36	β -Patchoulena	0,09
37	Zingiberen	0,04
38	β -Elemena	0,08
39	Methyl eugenol	1,09
40	Vanillin	0,5
41	2-heksilfuran	0,21
42	Bisiklo[5.2.0]Nonan, 2-Metilena-4,8,8-Trimetil-4-Vinil (CARYOPHYLLEN	0,27
43	p-Metoksifenil glisidil eter	0,18
44	α -Bergamotena	0,73
45	α -Guaina	0,23
46	Neallosimina	0,06
47	Seysellena	0,13
48	Farnesol	0,19

Tabel 1 (Lanjutan)

49	α .-Humulena	0,03
50	α .-Patchoulena	0,08
51	gamma.-Gurjunena	0,06
52	Naftalena	0,09
53	Germakren-D	0,17
54	Epi-Bisikloseskuifellandren	0,1
55	Farnesen	0,57
56	Cis-Kariofilen	0,76
57	Miristisin	22,22
58	α .-Bisabolen	0,18
59	Elemisin	1,49
60	Patkouli alkohol	0,04

biologis. Analisis komponen utama bisa dijadikan alternatif sebagai dasar penentuan kualitas minyak esensial.

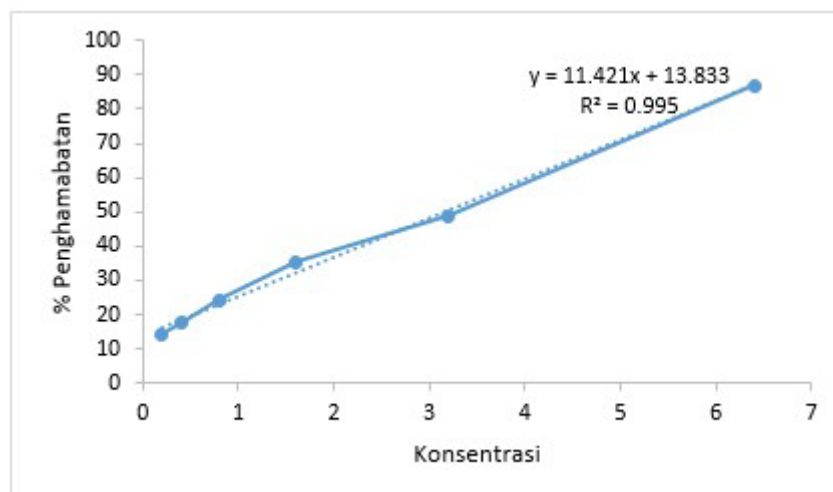
Prinsip metode DPPH didasarkan pada reaksi penangkapan atom hidrogen oleh DPPH dari senyawa antioksidan, sehingga dihasilkan IC_{50} dimana nilai IC_{50} dinyatakan sangat kuat bila $<50 \mu\text{g/mL}$, $50-100 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan kuat, $101-150 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan sedang dan dikatakan lemah bila nilai $IC_{50} >150 \mu\text{g/mL}$.¹³

Kapasitas antioksidan minyak atsiri pala dan komponen utamanya ditunjukkan pada Gambar 2 dan Tabel 2. Minyak atsiri pala mempunyai IC_{50} pada konsentrasi 3,16 %, hal ini menunjukkan minyak atsiri pala mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa KHM dari minyak atsiri terhadap bakteri uji mempunyai nilai bervariasi antara 0,31%-10%. Bakteri uji merupakan bakteri patogen utama pada

Tabel 2 Hasil % Inhibisi dan IC_{50} berbagai konsentrasi minyak atsiri buah Pala

Konsentrasi (%)	Absorbansi	% Penghambatan	IC_{50}
0,20	0,43	14,25	
0,40	0,41	17,56	
0,80	0,38	24,19	
1,60	0,33	35,26	3,16
3,20	0,26	48,71	
6,40	0,08	86,93	

**Gambar 2** Grafik persamaan regresi linier % Inhibisi berbagai konsentrasi minyak atsiri

Tabel 3 Kosentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Maksimum (KBM) Minyak Atsiri Buah Pala

Minyak Atsiri	Daya Hambat	<i>E Coli</i>	<i>P aeruginosa</i>	<i>B cereus</i>	<i>B subtilis</i>	<i>S aureus</i>	MRSA
Pala	KHM (%v/v)	2,5	-	0,313	10	0,625	2,5
	KBM (%v/v)	10	-	5	>10	10	>10

manusia yang dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan. Hampir semua orang akan pernah merasakan infeksi selama hidupnya, mulai dari infeksi yang cukup parah, keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi yang mengancam jiwa. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa minyak atsiri pala dapat digunakan digunakan untuk menanggulangi penyakit infeksi yang disebabkan bakteri *E coli*, *B cereus*, *B subtilis*, *S aureus* dan MRSA.

5. Simpulan

Dari hasil penelitian yang diuraikan diketahui bahwa kandungan minyak atsiri tanaman pala yang tumbuh di daerah Garut Jawa Barat dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan antioksidan dan antimikroba.

Daftar Pustaka

1. Checker R, Chatterjee S, Sharma D, Gupta S, Variyar P, Sharma A, et al. Immunomodulatory and radioprotective effects of lignans derived from fresh nutmeg mace (*Myristica fragrans*) in mammalian splenocytes. *Int Immunopharmacol*. 2008;8(5):661–9.
2. Somani RS, Singhai a K. Hypoglycaemic and antidiabetic activities of seeds of *Myristica fragrans* in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. *Asian J Exp Sci*. 2008;22(1):95–102.
3. Jaiswal P, Singh DK. Molluscicidal activity of nutmeg and mace (*Myristica fragrans* houtt.) against the vector snail *lymnaea acuminata*. *J Herbs, Spices Med Plants*. 2009;15(2):177–86.
4. Kareem MA, Gadhamsetty SK, Shaik AH, Prasad EM, Kodihela LD. Protective effect of nutmeg aqueous extract against experimentally-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 2013;4(4):216-223.
5. Galhotra, Virat, Sofat, Anjali, Dua Harpreet; Rohila, Sushant. Anticariogenic And Cariostatic Potential Of Components Of Diet: A Review. *Indian Journal of Dental Sciences* . 2014 Supp (4): 079-085.
6. Agbogidi OM. and Azagbaekwe OP. health and nutritional benefits of nut meg (*mystica fragrans* houtt.): *Sci. Agri*. 2013;1(2):40-44.
7. Moinuddin G, Devi K, Kumar Khajuria D. Evaluation of the anti-depressant activity of *Myristica fragrans* (Nutmeg) in male rats. *Avicenna J Phytomed*. 2012; 2(2):72-78.
8. Gupta A, BAnsai V, Babu V, et al. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *J Gen Engine and Biotechnol*. 2013;1(11):25-31.
9. C.A. Calliste, D. Kozlowski, J.L. Duroux, Y. Champavier, A.J. Chulia, P. Trouillas, A new antioxidant from wild nutmeg. *Food Chem*. 2010;3(118):489-496
10. El Malti J, Bourhim N, Amarouch H. Toxicity and antibacterial effect of mace of *Myristica fragrans* used in Moroccan gastronomy: Biochemical and histological impact. *J Food Saf*. 2008;28(3):422–41.
11. Cui H., Zhang X. Zhou H. Zhao C. Xiao Z, Lin L, and Li C., Antibacterial Properties of Nutmeg Oil in Pork. *J Food Saf*. 2015;3(35): 370-377.
12. Jaiswal P, Kumar P, Singh VK, Singh DK. Biological effects of *Myristica fragrans*. *Annu Rev Biomed Sci*. 2009;11(March):21–9.
13. Jun M, Fu HY, Hong J, Wang X, Yang CS, Ho CT. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobate* ohwi). *J of Food Science*. 2006. 2117- 22.