
DAYA HAMBAT EKSTRAK BUAH PALA (*Myristica fragrans Houtt*) TERHADAP *Salmonella typhi* SECARA IN VIVO**Oleh****Eka Noneng Nawangsih¹, Dimas TP Baladika² & Ania Kurniawati Purwa Dewi³**^{1,2,3}**Fakultas Kedokteran Unjani, Universitas Jenderal Achmad Yani****Jl. Ters.Jenderal Sudirman PO BOX 148, Cimahi,****Jawa Barat, (022)6642781-84****Email: ¹eka.noneng@lecture.ac.id, ²dimstrend@gmail.com, ³aniadewi@gmail.com****Abstrak**

Demam tifoid masih menjadi masalah di negara berkembang. Buah pala (*Myristica fragrans Houtt*) merupakan tanaman tradisional asal Indonesia yang memiliki manfaat antimikroba terhadap *salmonella*. Pemberian ekstrak pala dapat menghambat adhesi mikroba, enzim-enzim, dan sintesis protein. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan daya hambat ekstrak metanol daging buah pala terhadap kloramfenikol dan dosis efektif dari ekstrak metanol buah pala (*Myristica fragrans Houtt*) dalam menurunkan *Total Plate Count* (TPC) bakteri *Salmonella*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium menggunakan rancangan *Pre-Post Treatment Design*. Tikus galur Wistar jantan 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K1 (kontrol positif), K2 (kontrol negatif), K3 (diinfeksi *Salmonella* dan ekstrak pala 100 mg/kgBB), K4 (diinfeksi *Salmonella* dan ekstrak pala 150 mg/kgBB), K5 (diinfeksi *Salmonella* dan ekstrak pala 200 mg/kgBB). Uji beda menggunakan uji parametrik *one way ANOVA* dilanjutkan *post hoc test LSD*. Hasil menunjukkan ekstrak daging buah pala menurunkan jumlah TPC bakteri *Salmonella* secara bermakna ($p=0,043$), dengan uji *post hoc LSD* ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBB dengan dosis 150 mg/kgBB ($p=0,021$). Terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan 100 mg/kgBB dan kelompok kontrol positif ($p=0,028$). Simpulan penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah pala dapat menurunkan jumlah TPC bakteri *Salmonella*, khususnya pada dosis 150 mg/kgBB

Kata Kunci: Daya hambat, Ekstrak buah pala, *Salmonella Typhi*, in vivo**PENDAHULUAN**

Salmonella enterica serotipe typhi (*S. typhi*) merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit demam tifoid. Bakteri ini dapat menginfeksi melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh feses atau urin dari orang yang terinfeksi *S. typhi* [1].

Demam tifoid memiliki gejala dengan spektrum klinis yang luas, sehingga sangat sulit ditentukan jumlahnya. Data World Health Organization (WHO) tahun 2003 memperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia, dengan insidensi 600.000 kasus kematian setiap tahun [2]. Di Indonesia, demam tifoid jarang dijumpai secara epidemik namun bersifat endemik, dan banyak dijumpai di kota-kota

besar. Insidensi tifoid secara umum dilaporkan sebesar 75% didapatkan pada umur kurang dari 30 tahun. Pada anak-anak biasanya di atas 1 tahun dan terbanyak di atas 5 tahun [3]. Berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2010, demam tifoid atau paratifoid menempati urutan ke-3 dari 10 penyakit terbanyak pasien rawat inap di rumah sakit tahun 2010 yaitu sebanyak 41.081 kasus, dan yang meninggal sebanyak 274 orang. Sedangkan, menurut Riset Kesehatan Dasar Nasional tahun 2007, prevalensi tifoid klinis nasional sebesar 1,5% yang artinya ada kasus tifoid 1.500 per 100.000 penduduk Indonesia [2].

Penggunaan antibiotik pertama kali untuk mengobati demam tifoid yaitu kloramfenikol, pada tahun 1948 dan menjadi

terapi pilihan sampai tiga dekade di samping ampisilin dan trimetoprim sulfametoksazol. Namun karena penggunaan berbagai jenis antibiotik secara luas yang tidak tepat, dan mudahnya mendapatkan obat tersebut di masyarakat, dapat menimbulkan peningkatan terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik, yang disebut *antibiotic resistant bacteria* (ABRB), termasuk *S. typhi*. Laporan pertama mengenai resistensi *S. typhi* terhadap kloramfenikol pada tahun 1974, duapuluh tahun kemudian dilaporkan resistensi *S. typhi* terhadap kloramfenikol, ampisilin, dan trimetoprim sulfametoksazol, atau dikenal sebagai MDR (*multiple drug resistance*) *S. typhi* [4,5]. Selain itu penggunaan kloramfenikol dapat menimbulkan efek samping seperti anemia aplastik, *gray baby syndrome*, dan pertumbuhan *Candida albicans* pada membran mukosa [6]. Oleh karena itu, diperlukan suatu alternatif lain yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tanpa menimbulkan efek samping dan murah, yaitu rempah-rempah seperti tanaman pala yang mempunyai potensi antibakteri.

[1] Pala merupakan tanaman rempah-rempah yang berasal dari Maluku, namun pusat pembudidayaan hanya di dua kawasan Indonesia yaitu Pala Hindia Timur (*East Indian Nutmeg*) dan Kepulauan Pala Hindia Barat (*West Indian Nutmeg*).⁷ Bagian terbanyak dari buah pala ialah daging buah pala sebesar 77,9% sisanya terdiri dari biji dan tempurung. Namun bagian buah yang mempunyai nilai ekonomi cukup tinggi ialah biji pala yang dapat dijadikan minyak pala dan Indonesia merupakan pengeksport biji pala terbesar didunia sekitar 60%. Sedangkan bagian buah pala lainnya terutama daging buah pala kurang dimanfaatkan, padahal daging buah pala merupakan bagian terbesar dari hasil panen tanaman pala yang mempunyai potensi bahan baku yang sangat besar. Salah satu upaya pemanfaatan daging buah pala adalah pembuatan manisan pala, dodol pala, sirup pala, bahan baku kosmetik, dan juga obat-obatan [8]. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan

diketahui bahwa rempah-rempah seperti pala dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Komponen utama yang memberikan sifat antimikroba ialah minyak atsiri. Senyawa yang terkandung didalamnya seperti α -pinene, β -pinene, *terpine-4-ol*, dan *myristicin* memiliki aktivitas antimikroba yang baik, juga antiinflamasi dan antifungal [7-11]. Mekanisme antimikroba pala berkorelasi dengan kemampuannya menghambat adhesi mikroba, enzim-enzim, dan sintesis protein [7].

[2] Pada penelitian yang dilakukan oleh Ropy pada tahun 2011 mengenai daya hambat ekstrak metanol daging buah pala (*Myristica fragrans houtt*) terhadap *salmonella typhi* secara *in vitro*, didapatkan bahwa konsentrasi 100% ekstrak daging buah pala menunjukkan diameter zona hambat sebesar 24,5 mm sudah cukup efektif namun masih lebih efektif kloramfenikol dengan zona hambat sebesar 35,0 mm [12]. Selain buah pala, ekstrak tanaman daun senggani (*Melastoma candidum*) konsentrasi 100% menunjukkan daya hambat sebesar 21,44 mm [13,14]. Hal ini menunjukkan ekstrak daging buah pala lebih unggul dari tanaman lain dalam penghambatan antimikroba terhadap *S. typhi*. Belum banyak literatur mengenai penelitian rempah-rempah sebagai antimikroba secara *in vivo*, khususnya terhadap *S. typhi*. Salah satu uji potensi rempah-rempah yang pernah dilakukan oleh Siwipeni, *et al* pada tahun 2013 menguji curcumin (*Curcuma domestica*) sebagai antimikroba secara *in vivo* terhadap *S. typhi*, diketahui bahwa kombinasi kotrimoksazol dengan dosis 200 mg curcumin menunjukkan daya hambat yang signifikan setelah diterapi selama 5 hari [15].

Berdasarkan uraian diatas penulis bermaksud melanjutkan penelitian mengenai daya antimikroba buah pala secara *in vivo* dengan menggunakan sampel feses tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang sebelumnya telah diinduksi *S. typhi* dan diberi terapi ekstrak metanol buah pala dalam berbagai dosis selama 10 hari kemudian dibandingkan dengan kloramfenikol.

METODE PENELITIAN**Prosedur Pembuatan Ekstrak Metanol Daging Buah Pala**

Daging buah pala diekstrak dengan menggunakan teknik maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol daging buah pala diberikan secara oral dan diemulsifikasi dengan *Carboxy Methyl Cellulose*. Terapi dimulai 7 hari setelah infeksi, selama 10 hari. Dosis yang digunakan 100 mg/kgBB/hari, 150 mg/kgBB/hari, dan 200 mg/kgBB/hari yang diberikan dalam empat kali pemberian [16].

Preparasi Kloramfenikol

Dosis kloramfenikol 500 mg dikonversi pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) dengan faktor konversi 0,018. Dosis terapeutik yang diberikan 36 mg/hari yang dibagi dalam empat kali pemberian. Terapi diberikan menggunakan sonde *gavage* secara per oral.

Pembuatan Media Xylose Lysine Deoxycholate (XLD)

Sebanyak 53 gram agar powder XLD disuspensikan ke dalam 1 liter aquades yang telah disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121⁰ C 15 menit selama 2 jam. Larutan XLD agar, dipanaskan sambil diaduk dalam tabung *schott duran* menggunakan *vortex* hingga homogen dan mendidih. Setelah itu didiamkan sebentar hingga suhu $\pm 50^0$ C. Dituang ke dalam cawan petri masing - masing diisi 15 ml [17].

Reidentifikasi Bakteri

Reidentifikasi bakteri dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia. Pemeriksaan makroskopis dilakukan dengan cara melihat secara langsung morfologi koloni *Salmonella typhi* pada media pertumbuhan. Pengamatan secara mikroskopis dapat dilakukan setelah pewarnaan Gram. uji biokimia dengan mengambil koloni bakteri ditanam pada media uji biokimia (indol, MR, Vp, *simmons citrate*, motilitas, urea, TSIA, glukosa, laktosa dan sukrosa) diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam [18,19].

Peremajaan Bakteri Uji

Media XLD agar yang digunakan untuk peremajaan harus dalam bentuk padat. Koloni bakteri *Salmonella typhi* yang tumbuh pada

media XLD setelah di inkubasi selama 24 jam, diamati. Satu koloni bakteri diambil menggunakan ose yang sudah dipanaskan sampai pijar kemudian dengan cara *streak* diratakan pada permukaan XLD agar dalam cawan petri. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C [18,20].

Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni bakteri yang ditumbuhkan dalam media XLD lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Bakteri hasil biakan dicampurkan dengan larutan NaCl 0,9% steril ke dalam tabung reaksi, kemudian dinilai kekeruhannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 650 nm dan absorbansi 0,25 atau setara dengan kekeruhan McFarland 0,5 yaitu 10⁸ cfu/ml, kemudian diencerkan tiga kali hingga didapatkan 10⁵ cfu/ml sesuai dosis infeksi *S. typhi* terhadap tikus percobaan [15,21].

Penentuan Kepadatan Bakteri Salmonella typhi

Kepadatan bakteri *S. typhi* ditentukan dengan membandingkan berat badan tikus (*Rattus norvegicus*) rata-rata 200 gram dengan berat badan manusia rata-rata 70 kg, lalu dikalikan kepadatan rerata bakteri yang sudah bisa menginfeksi manusia. Maka dapat dihitung $200/70.000 \times 10^8 = 2,8 \times 10^5$ bakteri per mililiter. Namun dengan mempertimbangkan kapasitas lambung mencit, maka volume diperkecil menjadi 0,5 ml dan kepadatan dikalikan 2 menjadi $5,7 \times 10^5$ dalam 0,5 ml suspensi bakteri [21].

Lama Penginfeksian yang Diberikan secara per Oral

Infeksi sistemik *Salmonella typhi* terjadi pada hari ke-tujuh setelah terinfeksi [15]. Berdasarkan pernyataan studi tersebut, maka peneliti mengkonfirmasi bahwa tikus jantan galur wistar diberi terapi setelah diinduksi selama 7 hari. Pemberian terapi dilakukan selama 10 hari.

Prosedur Kultur Spesimen Feses

Kultur spesimen feses tikus dilakukan dengan cara sampel feses tikus sebanyak satu gram ditambah dengan 9 ml larutan NaCl 0,9% steril hingga didapatkan pengenceran P-

1. Sampel P-1 diencerkan kembali dengan NaCl 0,9% steril hingga didapat pengenceran yang diinginkan. Sebanyak 1 ml sampel dari pengenceran yang diinginkan dipipet dan ditanamkan pada cawan petri steril, selanjutnya ditambahkan medium XLD agar cair sebanyak 15 ml kemudian dihomogenkan digoyangkan cawan petri dengan pola angka delapan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam, dan diamati adanya pertumbuhan koloni bakteri [17,22].

Cara Pengukuran Total Plate Count

Koloni yang tumbuh dihitung, yaitu yang berjumlah antara 25-250 koloni dengan rumus *Total Plate Count* (TPC), jumlah bakteri (cfu/gram) = rata-rata koloni x faktor pengenceran. Apabila jumlah koloni kurang dari 25, catat jumlah aktual koloni pada pengenceran yang paling rendah dan laporkan sebagai dugaan cfu/g. Jika jumlah koloni tiap cawan petri lebih dari 250, hitung koloni dalam bagian petri berdasar distribusi yang mewakili, jika dalam hitungan < 10 koloni/cm², hitung koloni dalam 12 luasan dengan cara 6 luasan horizontal berurutan dan 6 luasan sudut kanan berurutan. Bila dalam hitungan > 10 koloni /cm² hitung koloni dalam 4 luasan yang mewakili seperti cara yang telah dijelaskan sebelumnya. Kalikan rerata jumlah koloni per cm² dengan luas petri. Pada umumnya luas petri sekitar 56 cm² gunakan ini sebagai faktor pengali [23].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reidentifikasi bakteri

Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis

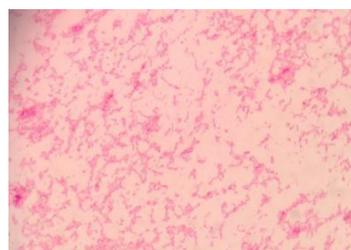
Berdasarkan hasil pemeriksaan makroskopis, hasil kultur feses sebelum dan sesudah perlakuan didapatkan koloni *Salmonella typhi* ukuran 1-3 mm, *translucent*, berwarna merah hingga oranye-merah muda dengan bintik hitam di tengah koloni [19]. Pemeriksaan morfologi koloni juga dilakukan dari hasil peremajaan bakteri, menunjukkan hasil yang hampir sama (Gambar 1).

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram untuk identifikasi morfologi dan sifat pewarnaan dari sel bakteri secara mikroskopis. Bahan pemeriksaan berasal dari hasil penanaman feses pada media XLD. Berdasarkan hasil pewarnaan gram didapatkan bakteri gram negatif, berbentuk batang lurus dan berwarna merah sesuai dengan karakteristik mikroskopis *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Gambar 2

Gambar 1. Koloni *Salmonella typhi* (a) sebelum terapi, (b) setelah terapi, (c) hasil peremajaan.



Gambar 2. Gambaran mikroskopis *Salmonella typhi*.



Untuk memastikan bakteri yang digunakan *Salmonella typhi* perlu dilakukan uji biokimia yang terdiri dari sulfur indol motilitas (SIM), *simon citrate*, *methyl red* (MR), *voges proskauer* (VP), urease, dan uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) [19]. Uji gula-gula terdiri dari glukosa, sukrosa, dan laktosa. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 3.

Tabel 1. Hasil uji gula-gula *S. typhi*

Uji biokimia							
	SC	MR	VP	U	Glu	Suk	lak
Hasil	-	+	+	-	+	-	-

Gambar 3. Hasil uji pada perbenihan TSIA (trile sugar iron agar)



Rerata Total Plate Count (TPC) *Salmonella typhi* antar Perlakuan

Setelah dilakukan perhitungan TPC didapatkan rerata jumlah koloni *Salmonella typhi* sebelum dan sesudah perlakuan. Data awal sebelum dan setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2 hingga Tabel 5 Hasil perhitungan jumlah rerata bakteri dari kultur feses tikus putih jantan galur wistar dapat dilihat pada masing-masing tabel.

Tabel 2 TPC jumlah bakteri *S.typhi* kelompok 1

Kelompok 1	Sebelum perlakuan (CFU/g)	Setelah perlakuan (CFU/g)
	Log ^a	
Tikus 1	12,9	5
Tikus 2	16,3	0
Tikus 3	16,3	0
Tikus 4	12,3	0
Tikus 5	15,07	0
Rerata	14,57 ± 1,9	1,00 ± 2,23

Tabel 3.TPC jumlah bakteri *S.typhi* kelompok 2

Kelompok 2	Sebelum perlakuan (CFU/g)	Setelah perlakuan (CFU/g)
	Log ^a	
Tikus 6	12,47	4,11
Tikus 7	12,3	4,07
Tikus 8	12	4,17
Tikus 9	10,47	3,47
Tikus 10	18	3,95
Rerata	13,05 ± 2,9	3,95 ± 0,3

Tabel 4 TPC jumlah bakteri *S.typhi* kelompok 3

Kelompok 3	Sebelum perlakuan (CFU/g)	Setelah perlakuan (CFU/g)
	Log ^a	
Tikus 11	16,77	3,3
Tikus 12	16,77	3
Tikus 13	18	0
Tikus 14	12,47	4,17
Tikus 15	16	0
Rerata	16,00 ± 2,1	2,09 ± 1,95

Tabel 5 TPC jumlah bakteri *S.typhi* kelompok 4

Kelompok 4	Sebelum perlakuan (CFU/g)	Setelah perlakuan (CFU/g)
	Log ^a	
Tikus 16	12	3
Tikus 17	16,3	5
Tikus 18	14	3,84
Tikus 19	12,3	2,3
Tikus 20	10,3	2,47
Rerata	12,98 ± 2,27	3,32 ± 1,11

Keterangan:

^a Persamaan hasil konversi dari bentuk pangkat menjadi bentuk logaritma (log 10)

Kelompok 1 : Kontrol Positif (Kloramfenikol)

Kelompok 2 : Ekstrak metanol buah pala dosis 100 mg/kgBB

Kelompok 3 : Ekstrak metanol buah pala dosis 150 mg/kgBB

Kelompok 4 : Ekstrak metanol buah pala dosis 200 mg/kgBB

Tabel 2 hingga tabel 5 memperlihatkan selisih rerata jumlah bakteri dari kultur feses tikus yang telah diinduksi *Salmonella typhi* seminggu sebelumnya. Pada perlakuan yang diterapi ekstrak buah pala, kelompok 3 merupakan kelompok dengan jumlah rerata bakteri terbanyak 16,00 log 10 CFU/g sebelum perlakuan dan mengalami penurunan bakteri dengan menyisakan 2,09 log 10 CFU/g setelah diterapi selama 10 hari. Pada kelompok 1 yang diterapi kloramfenikol menunjukkan hasil rerata TPC sebesar 1,00 log 10 CFU/g jumlah bakteri. Kelompok perlakuan setelah diterapi

ekstrak buah pala lainnya yakni, kelompok 2 memiliki rerata TPC 3,95 log 10 CFU/g setelah diterapi ekstrak buah pala dosis 100 mg, serta kelompok 4 setelah diterapi pada dosis 200 mg memiliki rerata TPC 3,32 log 10 CFU/g.

Signifikansi TPC antar Perlakuan

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan TPC secara signifikan sebelum dan setelah perlakuan maka dilakukan uji T berpasangan. Pengolahan secara statistik diawali dengan uji normalitas dan uji varians. Distribusi data dianalisis melalui uji normalitas *Shapiro Wilk* dan uji varians dianalisis melalui (*Levene Test*). Hasil didapatkan data berdistribusi tidak normal karena $p < 0,05$ ($p = 0,000$). Oleh karena itu, dilakukan transformasi data melalui fungsi Log 10 hasilnya distribusi data menjadi normal $p > 0,05$ ($p = 0,151$) pada kelompok sebelum perlakuan dan ($p = 0,206$) pada kelompok setelah perlakuan. Karena hasil transformasi data normal maka dapat dilakukan uji T berpasangan, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6 Hasil uji t-berpasangan sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok Uji	n	Rerata jumlah bakteri \pm SD	p
Sebelum perlakuan	25	1,12 \pm 0,07	0,000 ^b
Setelah perlakuan	25	0,55 \pm 0,10	

Keterangan:

^b $p < 0,05$: terdapat perbedaan bermakna antara jumlah bakteri sebelum dan setelah perlakuan.

Tabel 6. menunjukkan hasil bahwa terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara jumlah bakteri sebelum dan setelah perlakuan baik pada kelompok yang diberi kloramfenikol maupun ekstrak metanol buah pala pada masing-masing dosis 100 mg, 150 mg, dan 200 mg. Data tersebut membuktikan

teori sebelumnya bahwa buah pala memiliki daya antimikroba baik terhadap gram positif maupun gram negative [9].

Setelah mengetahui ada perbedaan bermakna sebelum dan setelah perlakuan, maka dilanjutkan uji *One Way Anova* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rerata TPC secara signifikan antar perlakuan yakni kelompok kontrol positif (kloramfenikol), ekstrak buah pala dosis 100 mg, 150 mg, dan 200 mg. Data yang digunakan pada uji ini adalah selisih jumlah koloni antara sebelum dan setelah perlakuan yang sudah dilakukan transformasi data melalui fungsi Log 10.

Data dilakukan tes *Saphiro-Wilk* untuk dinilai distribusinya dan *Levene Test* untuk melihat homogenitas datanya sebagai syarat dilakukan uji *One Way Anova* data harus berdistribusi normal dan homogen. Hasil didapatkan data berdistribusi normal karena $p > 0,05$ ($p = 0,069$) dan homogen karena nilai $p > 0,05$ ($p = 0,673$). Maka dapat dilakukan uji *One Way Anova*, hasil dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 7 Hasil uji *One Way Anova* pada penurunan jumlah *Salmonella typhi*.

Perlakuan	n	Rerata \pm SD	P
Kelompok 1	5	1,11 \pm 0,13	0,043
Kelompok 2	5	0,94 \pm 0,11	
Kelompok 3	5	1,12 \pm 0,12	
Kelompok 4	5	0,98 \pm 0,06	

Dari uji statistik ANOVA pada Tabel 6 menunjukkan bahwa pemberian terapi ekstrak buah pala maupun kloramfenikol sebagai kontrol positif mempengaruhi jumlah koloni *Salmonella typhi* secara *in vivo* dilihat dari nilai $p < 0,05$ ($p = 0,043$). Hal ini disebabkan karena efektivitas ekstrak buah pala dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen diduga berasal dari zat-zat yang ada di dalamnya seperti α -pinene, β -pinene, *terpine-*

4-ol, myristicin, terpine-4-ol, bergamol, dan a-terpineol asetat [7-11]

Kemampuan antimikroba pala berkorelasi dengan kemampuannya menghambat adhesi mikroba, enzim-enzim, dan sintesis protein [7]. Minyak essensial dan komponen kimia dalam pala telah diketahui dapat mempengaruhi lapisan phospholipid dari membran sitoplasma mikroba yang menyebabkan peningkatan permeabilitas, mengurangi ketersediaan substrat energi seperti glukosa, *Adenosine Triphosphate* (ATP) sehingga nutrisi sel berkurang yang menyebabkan gangguan fungsi enzim bakteri dan akhirnya berujung pada hancurnya sel-sel bakteri secara keseluruhan. Kemungkinan lain yakni penghambatan produksi amilase dan protease yang menghentikan produksi toksin, aliran elektron dan mengakibatkan tidak berfungsinya sel-sel bakteri. Apabila komponen struktural mikroba melemah dan tidak berfungsinya sel-sel, maka tingkat kerentanan meningkat. Sel-sel bakteri yang lemah memungkinkan akses yang mudah bagi agen antimikroba ke dalam komponen intraseluler dari sel bakteri dan menginduksi aktivitas penghambatan pada mikroorganisme [25].

Pengaruh Peningkatan Dosis Ekstrak Buah Pala Terhadap *Salmonella Typhi*

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa rempah-rempah seperti curcumin dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap *Salmonella typhi* secara *in vivo* dimulai dari dosis 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, hingga 200 mg/kgBB.¹⁵ Berdasarkan hasil penelitian tersebut, penulis menjadikan dasar penggunaan dosis terapi terhadap *Salmonella typhi*.

Setelah dilakukan uji *One Way Anova* didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan melakukan uji analisis *Post Hoc* LSD untuk mengetahui kelompok manakah yang memiliki perbedaan bermakna antar perlakuan. Hasil uji *Post Hoc* LSD dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7 Hasil uji *Post Hoc* LSD terhadap rerata selisih penurunan *S. typhi*

Kelompok perlakuan	Kelompok perlakuan	Rerata selisih	p
1	2	0,17	0,028*
	3	-0,01	0,876
	4	0,13	0,076
2	1	-0,17	0,028*
	3	-0,18	0,021*
3	4	-0,03	0,615
	1	0,01	0,876
	2	0,18	0,021*
4	4	0,14	0,056
	1	-0,13	0,076
	2	0,03	0,615
	3	-0,14	0,056

Keterangan:

* $p < 0,05$: terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok lain.

Data pada Tabel 7 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan penurunan jumlah bakteri yang bermakna antara kelompok kontrol positif (kloramfenikol) dengan kelompok perlakuan ekstrak buah pala dosis 100 mg/kgBB, namun tidak pada kelompok ekstrak lainnya. Diantara kelompok perlakuan ekstrak buah pala terdapat perbedaan penurunan jumlah bakteri bermakna antara kelompok dosis 100 mg/kgBB dengan dosis 150 mg/kgBB. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok dosis 200 mg/kgBB dengan kelompok positif maupun kelompok dosis 100 mg/kgBB, dan 150 mg/kgBB.

Berdasarkan hasil tersebut maka peningkatan dosis ekstrak buah pala hingga 150 mg/kgBB berpengaruh terhadap penurunan jumlah bakteri *Salmonella typhi* seperti halnya kloramfenikol. Pada dosis 200 mg/kgBB efektivitas menurun dibandingkan dengan dosis 150 mg/kgBB karena diduga berhubungan dengan konsentrasi obat terhadap target obat atau reseptor dalam tubuh tikus. Obat akan menimbulkan efek apabila konsentrasi obat yang berikatan dengan reseptor mampu mencapai *threshold* atau onset obat. Apabila konsentrasi obat yang berikatan pada reseptor tidak mencapai onset, maka tidak akan menimbulkan efek yang optimal [26].

Ekstrak metanol buah pala dosis 100 mg/kgBB kurang efektif dibandingkan dengan dosis 150 mg/kgBB karena diduga tidak memiliki konsentrasi obat yang sesuai untuk berikatan dengan reseptor dalam tubuh tikus. Sedangkan pada ekstrak metanol buah pala dosis 150 mg/kgBB terlihat paling efektif dibandingkan dengan dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Hal ini diduga karena dosis 150 mg/kgBB memiliki konsentrasi yang sesuai dengan jumlah reseptor yang terdapat dalam tubuh tikus, sehingga menghasilkan efek yang optimal. Disisi lain, kemungkinan peningkatan efektivitas ekstrak buah pala dosis 150 mg/kgBB dikarenakan kesalahan dalam membaca hasil TPC, dimana pada hasil kultur feses tikus 13 dan tikus 15 terdapat koloni yang belum membentuk H₂S (sulfur) yang memerlukan waktu lebih lama untuk menghasilkan H₂S (sulfur), sehingga saat pembacaan menunjukkan hasil negatif (tidak terdapat koloni *salmonella*), juga tidak ada pembaca kedua dan ketiga untuk mengurangi tingkat kesalahan subjektivitas penulis dalam melakukan penelitian.

PENUTUP

Kesimpulan

Rerata *Total Plate Count* (TPC) *Salmonella* setelah diterapi kloramfenikol yakni 1,00 log 10 CFU/g, ekstrak metanol buah pala dosis 100 mg/kgBB sebesar 3,95 log 10 CFU/g, dosis 150 mg/kgBB yakni 2,09 log 10 CFU/g, dan 200 mg/kgBB sebesar 3,32 log 10 CFU/g. Terdapat perbedaan signifikan TPC antar kelompok positif dengan ekstrak buah pala dosis 100 mg/kgBB, dan terdapat perbedaan signifikan antara dosis 150 mg/kgBB ekstrak buah pala dengan dosis 100 mg/kgBB. Selain itu ekstrak buah pala dosis 150 mg/kgBB mampu menurunkan jumlah TPC bakteri *salmonella* paling efektif.

Penelitian selanjutnya hendaknya dilakukan penelitian yang sama khusus ekstrak metanol daging buah pala dosis 150 mg/kgBB dengan inkubasi kultur feses yang lebih lama untuk membuktikan apakah terjadi

pertumbuhan koloni dan pembentukan H₂S atau tidak. Dilakukan penelitian lanjut uji toksisitas dan efek samping ekstrak metanol daging buah pala. Dilakukan juga penelitian uji stabilitas ekstrak metanol daging buah pala.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ, 2002, Typhoid fever. The New England Journal of Medicine, No.347, Vol.22, 1770-79.
- [2] Pramitasari OP, 2013, Faktor risiko kejadian penyakit demam tifoid pada penderita yang dirawat di rumah sakit umum daerah ungaran. Jurnal Kesehatan Masyarakat, No.2, Vol.1, 1-10.
- [3] Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2006, Pedoman pengendalian demam tifoid. Menkes. Jakarta.
- [4] Alam A, 2011, Pola resistensi *Salmonella enterica* serotipe typhi di Dept IKA RSHS 2006-2010, No.12, Vol.5, 296-300.
- [5] Zahar H. Enteric, 2012, fever an overview escalating threat, diagnostic and management options. Isra Medical Journal, No. 4, Vol.3, 179-181.
- [6] Howland RD, Mycek MJ, 2006, Lippincott's Illustrated Reviews Pharmacology. 3rd ed. Philadelphia Baltimore New York London Buenos Aires Hong Kong Sydney Tokyo: Lippincott Williams Wilkins; Hal. 375-7.
- [7] Sipahelut GS, 2010, Isolasi dan identifikasi minyak atsiri dari daging buah pala (*Myristica fragrans* Houutt). Jurnal Agroforestri, Vol.2, 296-9.
- [8] Sukmayanti A, Mutiatikum D, 2009, Pengembangan dan potensi pala (*Myristica fragrans*). Jurnal Kefarmasian Indonesia, No. 1, Vol.2, 64-70.
- [9] Joseph J, Pushparani D, Baskar V, Sakhtivel K, 2013, Potential socio-

- economic value-added therapeutic food from nutmeg fruit. *Journal of Biological and Information Sciences*, No.2, Vol.2, 14.
- [10] Kusumaningrum GS, Suranto, Setyaningsih R, 2003, Aktivitas penghambatan minyak atsiri dan ekstrak kasar biji pala (*Myristica fragrans* Houtt dan *Myristica fattua* Houtt) terhadap pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris* Oammel asal tanaman brokoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Biofarmasi*, No.1, Vol.1, 20-24.
- [11] Asgarpanah J, Kazemivash N. 2012, Phytochemistry and pharmacologic properties of *Myristica fragrans* Houtt. *African Journal of Biotechnology*; No.11, Vol 65, 12787-12793.
- [12] Ropy, 2013, Daya hambat ekstrak metanol daging buah pala (*Myristica fragrans* houtt) terhadap salmonella typhi secara in vitro. Cimahi: Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani. 2013.
- [13] Arinta A, Kusnadi J, 2012, Uji aktivitas Antibakteri ekstrak kasar daun gambir (*Uncaria gambir*) metode microwave-assisted extraction terhadap bakteri patogen. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Brawijaya.
- [14] Mulyani S, Sofiatun, Retnaningtyas E, 2010, Aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi n-heksan:kloroform:asam asetat (7:2:2) dari daun *Melastoma candidum* D.Don terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. Surakarta: Fakultas Pendidikan Kimia Universitas Negeri Sebelas Maret.
- [15] Rahayu SI, Nurdiana N, Santoso S, 2013, The effect of curcumin and cotrimoxazole in salmonella typhimurium infection in vivo. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- [16] Ekasari, Tjahjaningsih W, Cahyoko Y. 2012, Daya antibakteri tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, No.4, Vol.1, 1-6.
- [17] Bridson EY, 1998, *The oxid manual*. 8 ed. Hampshire: Oxoid.
- [18] Nesa MK, Khan MSR, Alam M, 2011, Isolation, identification, and characterization of salmonella serovars from diarrhoeic stool samples of human. *Bangl. J. Vet. Med.* No.9, Vol.1, 85-93
- [19] WHO, 2010, *Global Salm-Surv. Laboratory protocol: biochemical identification of salmonella and shigella using an abbreviated panel of tests*. Atlanta, GA; USA.
- [20] Cappuccino JG, Sherman N, 2005, *Microbiology: a laboratory manual*. 7th ed. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- [21] Purwaningroom DL, 2004, Uji in vitro pengaruh jenis tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus* dan *Pheretima aspergillum*) dengan variasi suhu pengolahan 500, 600, dan 700 terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. 2010.
- [22] Pertiwi WA, 2008, Profil mikroflora feses dan usus tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan konsumsi daging yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum*. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- [23] Funke BR, Tortora GJ, Case CL, 2004, *Microbiology: an introduction*. 8th ed. San Francisco: Benjamin Cummings.

-
- [24] Dahlan S, 2001, Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. Ed 5. Jakarta: Salemba Medika, Hal.69-101.
- [25] Abdelouaheb Djilani and Amadou Dicko. 2012. The Therapeutic Benefits of Essential Oils, Nutrition, Well-Being and Health, Dr. Jaouad Bouayed (Ed.), ISBN: 978-953-51-0125-3, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/nutrition-well-being-and-health/the-therapeutic-benefits-of-essential-oils>
- [26] Nagano I, 2008, Myristica fragrans: An Exploration of the Narcotic Spice. The Entheogen Review. Vernal Equinox. No.16, Vol.1, 15-24. Online edition: Erowid.org/nutmeg/nutmeg_article1.shtml.