

Analisis Sifat dan Efektivitas Anti-Mikroba Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica Fragrans*) untuk Pemurnian Kualitas Udara pada Ruangan *ISO Class 8*

Dody Guntama^(1, a), Rifkie Juan Firmansyah⁽¹⁾, Tasyia Amanda Syfa Pujiutami⁽¹⁾

⁽¹⁾Prodi S1 Teknik Kimia, Universitas Jayabaya, Depok, Indonesia, 16452
Email :^{a)}dodysopril@gmail.com

Diterima (31 Maret 2021), Direvisi (22 Juni 2021)

Abstract. Nutmeg oil contains substances that act as anti-bacterial. Separation of nutmeg oil using the Soxhlet method. Nutmeg oil is used to improve indoor air quality in terms of decreasing the number of bacteria by applying it to a diffuser. The results of testing the effectiveness of nutmeg oil at a concentration of 0.1%; 0.3%; and 0.5% for the Total Particle parameter, the size of 0.5 μm , there was an increase from before testing an average of 993,923 particles / m^3 to 2,329,135 particles / m^3 , for particles of size 5 μm from an average of 3,110 particles / m^3 to 4,965 particles / m^3 . Microbiological parameters such as Settle Plate resulted in a decrease in the number of bacteria from an average concentration of 0% 51 CFU / 4 hours to 23 CFU / 4 hours at a concentration of 0.5%. Microbiological Active Air Sampling averaged 60 CFU / m^3 at a concentration of 0% to 23 CFU / m^3 at a concentration of 0.5%. Contact Plate (wall) averaged 2 CFU / plate at a concentration of 0% to 0 CFU / plate at a concentration of 0.5% and testing of the Contact Plate (floor) from an average of 8 CFU / plate at a concentration of 0% to 5 CFU / plate at a concentration of 0.5%.

Keywords: nutmeg, essential oil, anti-bacterial, diffuser, ISO Class 8 cleanroom

Abstrak. Minyak biji pala mengandung zat yang berfungsi sebagai anti-bakteri. Pemisahan minyak biji pala dengan metode *soxhletasi*. Minyak biji pala digunakan untuk meningkatkan kualitas udara ruangan dari segi penurunan jumlah bakteri dengan pengaplikasian pada *diffuser*. Hasil pengujian efektivitas minyak biji pala pada konsentrasi 0,1%; 0,3%; dan 0,5% untuk parameter *Total Particle* ukuran 0,5 μm terdapat peningkatan dari sebelum dilakukan pengujian rata-rata 993.923 partikel/ m^3 menjadi 2.329.135 partikel/ m^3 , untuk partikel ukuran 5 μm dari rata-rata 3.110 partikel/ m^3 menjadi 4.965 partikel/ m^3 . Parameter mikrobiologi seperti *Settle Plate* memberikan hasil penurunan jumlah bakteri dari konsentrasi 0% rata-rata 51 CFU/4 jam menjadi 23 CFU/4 jam pada konsentrasi 0,5%. *Microbiological Active Air Sampling* rata-rata 60 CFU/ m^3 pada konsentrasi 0% menjadi 23 CFU/ m^3 pada konsentrasi 0,5%. *Contact Plate* (dinding) rata-rata 2 CFU/plate pada konsentrasi 0% hingga 0 CFU/plate pada konsentrasi 0,5% dan pengujian *Contact Plate* (lantai) dari rata-rata 8 CFU/plate pada konsentrasi 0% hingga 5 CFU/plate pada konsentrasi 0,5%.

Kata kunci: biji pala, minyak atsiri, anti mikroba, diffuser, ISO Class 8 Cleanroom

PENDAHULUAN

Biji pala (*Myristica fragrans*) merupakan salah satu komoditas yang unggul dari Indonesia. Tumbuhan yang hidup di ketinggian 700 meter di atas permukaan laut yang beriklim lembap maupun panas ini memiliki banyak manfaat dan harga jual yang tinggi^[1]. Biji pala

merupakan salah satu tanaman rempah yang dikenal dan dimanfaatkan untuk obat tradisional. Seluruh bagian dari tanaman ini memiliki banyak manfaat yang luar biasa bagi manusia. Banyak penelitian yang mendukung pemanfaatan biji pala ini terkait dengan manfaatnya bagi kesehatan. Salah satu nilai ekonomis dari tanaman pala terletak pada bagian biji. Biji pala segar

menghasilkan 5-15% minyak atsiri [2]. Komposisi senyawa yang terdapat pada minyak atsiri biji pala di antaranya *β -Pinena*, *α -Pinena*, *Safrol*, *Myristicin*, *α -Terpineol*, *Eugenol*, *Limonena*, dan lain-lain^[3] merupakan zat yang diyakini bersifat sebagai anti-mikroba.. Penelitian tentang minyak atsiri saat ini banyak diarahkan untuk pemanfaatannya sebagai anti-mikroba penyakit yang disebabkan oleh bakteri atau virus. Saat ini, banyak penyakit yang disebabkan karena mikroba yang terdapat di lingkungan sekitar. Sehingga banyak orang yang sangat peduli dengan kebersihan barang dan lingkungan. Penyebaran penyakit lewat virus dan bakteri dapat terjadi ketika terdapat kontak dengan orang yang terjangkit atau lewat udara. Usaha-usaha yang dapat dilakukan untuk mencegah virus dan bakteri di antaranya selalu menjaga kontak dengan orang lain dengan menggunakan masker, menjaga jarak, dan selalu memperhatikan kebersihan barang-barang yang akan digunakan namun masih tak menutup kemungkinan virus dan bakteri dapat menyerang diri kita karena adanya kontaminasi dari udara. Sehingga perlu dilakukan peningkatan kualitas udara.

Salah satu kandungan dari minyak atsiri biji pala yang memiliki potensi sebagai anti-mikroba adalah adanya senyawa *Terpineol*. Senyawa ini dapat diperoleh dengan cara ekstraksi minyak atsiri dari biji pala. Minyak dipisahkan dari biji pala dengan ekstraksi metode *soxhletasi*, dengan pelarut Etanol 96% pada suhu 60 °C sesuai dengan titik didihnya. Digunakan pelarut Etanol karena senyawa golongan *Terpineol* dapat larut dalam Etanol 96%. Kemudian zat yang telah terekstrak dipisahkan dari pelarutnya secara distilasi dengan metode *soxhletasi* sehingga diperoleh minyak atsiri biji pala. Dengan memanfaatkan minyak biji pala yang diaplikasikan pada *diffuser* tersebut dapat membantu menekan pertumbuhan virus dan bakteri di udara sehingga kualitas udara menjadi lebih bersih, sehat serta aman bagi tubuh.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi yang dapat diklasifikasikan sebagai ruangan bersih *ISO Class 8* yang telah memenuhi beberapa parameter. Ruangan bersih adalah ruangan yang dibuat dan dikontrol secara khusus untuk mengurangi tingkat partikel yang berpengaruh pada kualitas proses dan produk^[4]. Untuk memenuhi klasifikasi kualitas udara yang ditentukan digunakan beberapa acuan untuk menetapkan sebuah ruangan dapat dikategorikan sebagai ruangan bersih, di antaranya ISO 14644-1: *Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration* [5], USP <1116>: *Microbiological Evaluation of Cleanrooms* [6], dan EU GMP Annex 1: *Manufacture of Sterile Medicinal Products* [7]. Pemurnian udara dilakukan untuk menjaga kesterilan dari ruangan uji yang juga bertujuan untuk meningkatkan akurasi dan proses pengujian. Dengan memanfaatkan minyak biji pala yang diaplikasikan pada *diffuser* tersebut dapat membantu menekan pertumbuhan virus dan bakteri di udara sehingga kualitas udara menjadi lebih bersih, sehat serta aman bagi tubuh.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Peralatan yang digunakan meliputi neraca (Sartorius BSW822), piala gelas (IWAKI), blender (Tupperware), *soxhlet* (IWAKI), refraktometer (Bellingham+Stanley RFM870), polarimeter (ATAGO AP-300), piknometer (DURAN), GC-MS (Agilent), cawan petri (NORMAX), *hot plate* (IKA C-MAG), autoklaf (Systec), *particle counter* (Aerotrak), *microbiological air sampler* (Merck), *contact plate* (Thermo

Scientific), inkubator (MEMMERT B800) dan *diffuser* (Aroma Diffuser).

Bahan

Bahan baku yang digunakan adalah biji pala, aquadest, Etanol (C_2H_5OH) (96% Purity Merck, Germany), media *Tryptic Soy Agar* (Becton-Dickinson, USA), dan media *Tryptic soy agar with polysorbate 80 and lecithin* (Merck, Germany).

Persiapan Sampel

Sampel biji pala dicuci bersih dengan air keran, kemudian dicuci dengan *aquadest*. Setelah itu biji pala diblender hingga halus, sehingga diperoleh ukuran 50 mesh.

Proses Ekstraksi

Serbuk biji pala yang sudah kering diekstraksi dengan metode *soxhletasi*. Digunakan pelarut Etanol 96% untuk melarutkan senyawa α -terpineol di dalam biji pala. Ekstraksi dilakukan pada suhu $\pm 60^\circ C$ selama 3 jam sehingga diperoleh larutan α -terpineol dalam Etanol 96% [5].

Proses Distilasi

Minyak biji pala yang terlarut dalam Etanol 96% kemudian dipisahkan dengan metode *soxhletasi* pada suhu $\pm 60^\circ C$. Distilasi dilakukan hingga seluruh Etanol 96% terpisah dan meninggalkan minyak biji pala pada labu didih. Residu ditimbang dan diperoleh sebagai minyak biji pala [5].

Analisis Keadaan Fisik

Minyak biji pala hasil ekstraksi dan distilasi diamati kondisi fisiknya. Ada dua parameter yang termasuk ke dalam syarat fisik minyak biji pala, yaitu warna dan bau. Pengecekan warna dilakukan dengan diamati. Sedangkan pengecekan bau dilakukan dengan cara dihirup. Hasil yang diperoleh dicatat untuk dibandingkan dengan standar acuan [5].

Analisis Berat Jenis dengan Piknometer

Piknometer dikeringkan di dalam oven untuk menghilangkan air yang tersisa, setelah itu ditimbang dan diperoleh bobot piknometer kosong. Selanjutnya piknometer diisi dengan pembanding (air) sampai penuh. Pastikan suhu yang tercatat pada termometer $20^\circ C$. Setelah itu, piknometer ditimbang sehingga diperoleh bobot piknometer + pembanding (air). Kemudian piknometer diisi dengan sampel hingga penuh. Pastikan suhu yang tercatat pada termometer $20^\circ C$. Setelah itu piknometer ditimbang sehingga diperoleh bobot piknometer + sampel. Berat jenis dapat dihitung dengan membandingkan massa jenis sampel dengan massa jenis pembanding (air). Berat jenis sampel dapat dituliskan dengan persamaan [5]:

$$\text{bobot air} = (\text{bobot pikno} + \text{air}) - \text{bobot pikno kosong} \quad (1)$$

$$\text{bobot sampel} = (\text{bobot pikno} + \text{sampel}) - \text{bobot pikno kosong} \quad (2)$$

$$\rho_{\text{air}} = \frac{\text{bobot air}}{\text{volume air}} \quad (3)$$

$$\rho_{\text{sampel}} = \frac{\text{bobot sampel}}{\text{volume sampel}} \quad (4)$$

$$\text{berat jenis sampel} = \frac{\rho_{\text{sampel}}}{\rho_{\text{air}}} \quad (5)$$

Analisis Indeks Bias dengan Refraktometer

Prisma Refraktometer dibilas dengan menggunakan air, lalu dibaca nilai indeks bias standar ($n_{\text{air } 20^{\circ}\text{C}} = 1,3333$). Pastikan tidak ada gelembung yang terdapat pada prisma. Setelah diperoleh indeks bias standar, prisma dikeringkan dengan menggunakan tisu hingga kering sempurna. Sebelum sampel dibaca, prisma terlebih dahulu dibilas dengan sampel yang akan dianalisis sebanyak 3 kali agar memastikan zat selain sampel tidak tertinggal pada prisma. Kemudian sampel ditetaskan ke atas prisma secara penuh dan merata, pastikan tidak ada gelembung yang terdapat pada prisma. Kemudian prisma ditutup dan dibaca pada alat. Setelah sampel terbaca, nilai indeks bias akan ditampilkan pada layar. Setelah alat digunakan, prisma dibersihkan kembali dengan air dan dikeringkan dengan tisu sampai kering sempurna [5].

Analisis Kelarutan dalam Etanol 96%

Disiapkan wadah berupa tabung reaksi. Ditambahkan Etanol 96% sebanyak 3 ml. Lalu sedikit demi sedikit ditambahkan sampel hasil ekstraksi sampai 1 ml (diperoleh perbandingan 1:3). Lalu diamati hasilnya dan dicatat. Bila masih jernih, penambahan sampel diteruskan hingga perbandingan 3:3, dengan pengamatan dan pencatatan data setiap 1 ml penambahan sampel [5].

Analisis Putaran Optik dengan Polarimeter

Disiapkan alat polarimeter beserta tabung polarimeter. Tabung polarimeter dibilas terlebih dahulu dengan air. Pastikan suhu air 20°C , lalu dimasukkan ke dalam tabung polarimeter dan dibaca pada polarimeter sebagai blanko (0°). Setelah pembacaan blanko selesai, tabung polarimeter dibilas dengan sampel yang akan dibaca. Kemudian tabung polarimeter diisi dengan sampel yang akan dibaca. Tabung dimasukkan ke dalam polarimeter dan dibaca. Hasil putaran optik akan ditampilkan pada layar polarimeter [5].

Analisis Zat Sisa Penguapan

Cawan uap dikeringkan di dalam oven untuk menghilangkan air yang tersisa, setelah itu ditimbang dan diperoleh bobot cawan kosong. Selanjutnya ditimbang ± 2 gram sampel pada cawan. Selanjutnya cawan diuapkan di atas *hotplate* pada suhu $\pm 200^{\circ}\text{C}$ selama 4 jam. Setelah 4 jam, cawan dimasukkan ke dalam desikator hingga dingin. Lalu ditimbang sehingga diperoleh bobot cawan setelah penguapan. Kadar residu (zat sisa penguapan) dapat dituliskan dengan persamaan [5]:

$$\text{bobot residu} = \text{bobot cawan set uap} - \text{bobot cawan kosong} \quad (6)$$

$$\% \text{ residu} = \frac{\text{bobot residu}}{\text{bobot sampel}} \times 100\% \quad (7)$$

Analisis Kandungan Sampel dengan GC-MS

Minyak biji pala yang diperoleh diambil kemudian dianalisis secara kromatografi dengan GC-MS. Sampel harus dipersiapkan terlebih dahulu dengan cara diambil sebanyak 1 ml kemudian dilarutkan ke dalam 10 ml *Methylene chloride*. Setelah sampel siap, sampel dimasukkan ke dalam vial kemudian dibaca pada alat GC-MS dengan kondisi operasi alat yaitu: kolom J&W DB-5ms, panjang 30 m, ID 0,25 mm, gas pembawa Helium, pengionan EI 70 ev, suhu kolom 40 °C, suhu injeksi 250 °C, mode injeksi *split*, tekanan 7,1 psi, *total flow* 14 ml/min, *column flow* 1 ml/min, *linear velocity* 36,262 cm/s, *purge flow* 3 ml/min, *split ratio* 10:1, *ion source* 250 °C, *interface* 300 °C. Hasil spektrum dibandingkan dengan *library* pada *software* Agilent 7890A. Spektrum MS akan menunjukkan hasil kandungan senyawa yang terkandung dalam sampel tersebut (*α-terpineol*) [5].

Aplikasi pada Diffuser untuk Pemurnian Udara

Sampel hasil ekstraksi digunakan untuk pemurnian udara pada ruangan *ISO Class 8* di Laboratorium Mikrobiologi. Untuk mengetahui efektivitas zat anti-mikroba dari minyak biji pala, maka dibuat 3 konsentrasi pengujian 0,1%, 0,3%, dan 0,5%. Ketiga sampel dengan konsentrasi berbeda yaitu dimasukkan ke dalam *diffuser*, lalu *diffuser* dinyalakan selama 1 jam. Setelah 4 jam ruangan didiamkan, dilakukan pemantauan kebersihan lingkungan ruangan tersebut secara bergantian^[5].

Pembuatan *Settle Plate*

Ditimbang 40 gram media *Tryptic Soy Agar* (TSA), lalu dilarutkan dalam 1 liter air. Dicek pH media harus sesuai dengan yang tertera pada kemasan (pH 7,3±0,2). Media yang telah dilarutkan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih dan larut sempurna. Setelah itu media disterilisasi di autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 Psi. Media steril dituang ke cawan petri pada suhu 45 °C. Setelah didiamkan selama 3 hari, *settle plate* dapat digunakan untuk pemantauan kebersihan lingkungan [5].

Pembuatan *Contact Plate*

Ditimbang 45,7 gram media *Tryptic Soy Agar with Polysorbate 80 and Lecithin* (TSA-L), lalu dilarutkan dalam 1 liter air. Dicek pH media harus sesuai dengan yang tertera pada kemasan (pH 7,3±0,2). Media yang telah dilarutkan dipanaskan dengan *hot plate* hingga mendidih dan larut sempurna. Setelah itu media disterilisasi di autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 Psi. Media steril dituang ke *contact plate* pada suhu 45 °C. Setelah didiamkan selama 3 hari, *contact plate* dapat digunakan untuk pemantauan kebersihan lingkungan^[5].

Pemantauan Total Partikel

Ruangan yang telah diaplikasikan dengan *diffuser* dicek total partikelnya dengan alat *Particle Counter*. Pengecekan dilakukan selama satu menit pada dua titik sampling di setiap ruangan. Setelah pengecekan, total partikel akan otomatis terlihat pada monitor alat (m³) [5].

Pemantauan Total Bakteri dan Jamur secara *Settle Plate*

Ruangan yang telah diaplikasikan dengan *diffuser* dicek total bakteri dan jamur dengan metode *settle plate*. Cawan petri yang berisi agar TSA dibuka dan diletakkan pada dua titik sampling di setiap ruangan. Pengecekan dilakukan selama 4 jam. Setelah pengecekan, *settle plate* diinkubasi pada suhu 30-35 °C selama 5 hari. Pertumbuhan dicatat dan dilaporkan dalam CFU/4 jam [5].

Pemantauan Total Bakteri dan Jamur dalam Udara Aktif

Ruangan yang telah diaplikasikan dengan *diffuser* dicek total bakteri dan jamur yang berada dalam udara aktif. Cawan petri yang berisi agar TSA dibuka dan diletakkan pada alat *Microbiological Air Sampler* (MAS) pada dua titik sampling di setiap ruangan. Pengecekan dilakukan selama 10 menit. Setelah pengecekan, cawan petri berisi agar diinkubasi pada suhu 30-35 °C selama 5 hari. Pertumbuhan dicatat dan dilaporkan dalam CFU/m³ [5].

Pemantauan Total Bakteri dan Jamur secara *Contact Plate*

Ruangan yang telah diaplikasikan dengan *diffuser* dicek total bakteri dan jamur yang berada pada permukaan ruangan. *Contact plate* yang berisi agar TSA-L, ditempelkan pada dinding dan lantai ruangan. Setelah pengecekan, *contact plate* berisi agar diinkubasi pada suhu 30-35 °C selama 5 hari. Pertumbuhan dicatat dan dilaporkan dalam CFU/plate [5].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi minyak atsiri biji pala dilakukan melalui 2 proses yaitu ekstraksi di mana pada proses ini, biji pala yang telah dihancurkan dan diayak menjadi serbuk diekstraksi dengan pelarut Etanol 96% pada suhu 60°C selama 3 jam. Ekstraksi berakhir ketika larutan Etanol 96% yang tertampung pada bagian *thimble* tidak berwarna yang menandakan bahwa seluruh minyak atsiri pada sampel telah terlarut pada Etanol 96%. Proses *soxhletasi* yang terlalu lama juga dapat berpengaruh terhadap rendemen yang dihasilkan. Apabila suhu dan tekanan meningkat sehingga rendemen minyak menurun karena terjadi proses polimerisasi yang menghasilkan polimer-polimer dengan berat molekul yang lebih tinggi^[8]. Hasil ekstraksi kemudian dipisahkan dengan metode distilasi pada suhu 60°C hingga seluruh pelarut terpisah dari campuran.

Hasil dari proses ekstraksi menggunakan metode *soxhletasi* didapatkan rendemen minyak atsiri sebanyak 6,23%. Hasil ini dapat dikategorikan cukup rendah karena pada umumnya hasil rendemen minyak atsiri pada biji pala berkisar antara 5-15%, hal ini dikarenakan kurang optimumnya alat yang digunakan pada saat proses ekstraksi. Hasil ekstraksi-distilasi minyak atsiri biji pala dengan metode *soxhletasi* bila dibandingkan dengan SNI 06-2388-2006 [5], disajikan pada Tabel berikut:

Tabel 1. Hasil analisis jika dibandingkan dengan SNI 06-2388-2006

| Parameter Uji | Standar SNI 06-2388 Tahun 2006 | Hasil |
|---|--------------------------------|--------------------------|
| Rendemen | 5 – 15 % | 6,23 % |
| Warna | Tidak berwarna-kuning pucat | Kuning sedikit kemerahan |
| Bau | Khas minyak pala | Khas minyak pala |
| Berat jenis (20°C) (g/cm ³) | 0,880 – 0,910 | 0,94484 |
| Indeks bias (nD ²⁰) | 1,470 – 1,497 | 1,4914 |
| Kelarutan dalam ethanol 90% (20°C±3°C) | 1:3 Jernih, seterusnya jernih | Jernih |
| Putaran Optik (°) | (+)8° – (+)25° | (+)8,32° |
| Sisa Penguapan (%) | Maksimum 2% | 1,94 % |

Keadaan Fisik

Dari hasil penyulingan, didapatkan minyak atsiri biji pala yang berwarna kuning sedikit kemerahan, sedangkan berdasarkan SNI 06-2388-2006^[5] umumnya minyak atsiri biji pala berwarna kuning pucat. Hal ini dapat dipengaruhi oleh pemilihan bahan baku biji pala yang digunakan. Karakteristik biji pala yang digunakan berwarna merah kecokelatan sehingga dapat berpengaruh pada minyak yang dihasilkan. Selain itu suhu yang terlalu tinggi juga dapat mempengaruhi karakteristik minyak yang dihasilkan. Dikarenakan metode yang digunakan pada kedua tahapnya melalui proses pemanasan, di mana media pemanasnya berupa *heatingmantle* sehingga panas yang diberikan oleh pemanas mengalami kontak langsung dengan labu didih yang berisikan hasil ekstraksi. Berbeda dengan metode yang umumnya dipakai dalam penyulingan minyak atsiri biji pala yaitu dengan distilasi uap di mana media pemanasnya berupa uap air sehingga tipe

pemanasannya *indirect* atau pemanasan tidak langsung.

Penentuan Berat Jenis

Dengan alat piknometer, diperoleh berat jenis minyak atsiri biji pala sebesar 0,94484 g/cm³. Bila dibandingkan dengan SNI 06-2388-2006^[5], hasil yang diperoleh berada di atas standar persyaratan (0,880 – 0,910 g/cm³). Hal ini bisa disebabkan karena distilasi yang belum sempurna, sehingga akan ada sedikit sisa Etanol 96% yang dapat memengaruhi nilai berat jenis. Selain itu faktor pengukuran yang kurang teliti juga bisa menjadi penyebab kesalahan dalam pengecekan berat jenis seperti penimbangan yang kurang teliti, pembacaan suhu yang kurang tepat, atau hal lainnya. Adanya perbedaan suhu dapat memengaruhi nilai berat jenis yang diukur.

Penentuan Indeks Bias

Indeks bias sangat penting dalam menentukan kemurnian suatu zat. Dengan alat refraktometer, diperoleh nilai indeks bias dari minyak atsiri biji pala sebesar 1,4914. Bila dibandingkan dengan SNI 06-2388-2006, hasil yang diperoleh sudah sesuai dengan standar acuan (1,470 – 1,497). Namun suhu tetap harus diperhatikan dalam pengecekan indeks bias ini. Suhu tersebut harus benar-benar diatur dan dipertahankan karena sangat mempengaruhi indeks bias [9].

Penentuan Kelarutan dalam Etanol 96%

Kelarutan minyak atsiri biji pala dalam Etanol 96% merupakan salah satu parameter fisika yang terdapat dalam SNI 06-2388-

2006. Nilai kelarutan ini berpengaruh terhadap sifat polaritas dari minyak atsiri biji pala [10]. Ketika dilarutkan dalam Etanol 96%, seluruh minyak atsiri biji pala terlarut dan menghasilkan larutan jernih kekuningan. Hal ini sudah sesuai jika dibandingkan dengan standar, yaitu jernih. Hasil ini menunjukkan minyak atsiri biji pala bersifat non-polar, dan dapat larut dalam pelarut organik lainnya.

Penentuan Putaran Optik

Salah satu cara penentuan kemurnian suatu zat dengan menggunakan metode polarimetri. Digunakan polarimeter karena cepat, praktis, dan tidak merusak zat yang terkandung di dalamnya. SNI 06-2388-2006 membatasi baku mutu putaran optik untuk minyak atsiri biji pala sebesar $(+)8^{\circ} - (+)25^{\circ}$. Hasil yang diperoleh sebesar $(+)8,32^{\circ}$ dan sudah sesuai dengan standar acuan. Pada umumnya minyak atsiri bersifat optis aktif sehingga dapat memutar bidang polarisasi cahaya, karena struktur molekul minyak atsiri tersusun dari banyak atom C asimetris [11].

Penentuan Zat Sisa Penguapan

Di dalam minyak atsiri terdapat zat yang menguap, dan ada juga zat yang tidak menguap (residu). Residu ini dapat berupa zat-zat lain yang tertinggal atau tersisa, dapat berupa kontaminan atau pengotor yang tidak menguap karena adanya pemanasan. Untuk minyak atsiri biji pala perlu dilakukan pengecekan terhadap sisa penguapan sesuai dengan SNI 06-2388-2006 [5], yang membatasi residu maksimal 2%. Setelah dilakukan pengecekan, diperoleh hasil sebesar 1,94%. Hasil yang diperoleh

mendekati batas standar namun masih memenuhi persyaratan.

Komponen Minyak Biji Pala

Minyak atsiri biji pala hasil distilasi fraksinasi pengurangan tekanan mengandung 5 senyawa dominan, yaitu α -pinene, sabinene, 2- β -pinene, terpineol dan myristicin^[3]. Hasil pengujian komponen yang dominan terkandung pada minyak atsiri biji pala dengan menggunakan metode distilasi *soxhletasi* disajikan pada Tabel berikut:

Tabel 2. Komponen utama hasil ekstraksi minyak atsiri biji pala

| Waktu Retensi | % Area | Nama Senyawa |
|---------------|--------|-------------------------|
| 17,485 menit | 20,65% | Myristicin |
| 9,206 menit | 20,02% | β -Pinene |
| 8,275 menit | 17,21% | α -Pinene |
| 10,093 menit | 8,74% | <i>o</i> -Cymene |
| 12,789 menit | 6,31% | 4- Terpineol |
| 14,404 menit | 3,31% | Safrole |
| 12,992 menit | 1,93% | α - Terpineol |

Umumnya senyawa yang terkandung dalam hasil ekstraksi mengandung senyawa yang merupakan golongan terpen seperti (α -Pinene, β -Pinene, *o*-Cymene, α -Terpineol, 4-Terpineol). Senyawa terpena merupakan senyawa yang menyusun sebagian besar minyak atsiri yang berasal dari tumbuhan. Senyawa ini juga memiliki karakteristik memiliki aroma yang khas sehingga banyak digunakan untuk wewangian dan aroma terapi. Senyawa golongan *terpineol* dan *safrole* merupakan senyawa yang berperan aktif sebagai anti-mikroba [3].

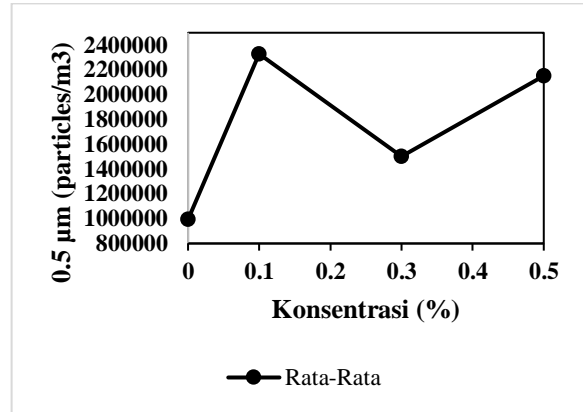
Total Partikel

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui total partikel berukuran $0,5\ \mu\text{m}$ dan $5,0\ \mu\text{m}$ di udara yang meliputi partikel hidup dan tidak hidup dengan menggunakan alat *particle counter* yang dilakukan selama 1 menit.

Bila dilihat dari Tabel 3, total partikel dari keadaan sebelum pengujian (blanko) diperoleh rata-rata total partikel untuk ukuran $0,5\ \mu\text{m}$ adalah sebesar $993.923\ \text{partikel/m}^3$ di mana umumnya pada keadaan sebelum pengujian total partikel cenderung lebih rendah dibanding total partikel di konsentrasi $0,1\%$; $0,3\%$; dan $0,5\%$. Untuk konsentrasi $0,1\%$ diperoleh rerata sebesar $2.329.135\ \text{partikel/m}^3$, $1.500.548\ \text{partikel/m}^3$ untuk konsentrasi $0,3\%$, dan $2.150.265\ \text{partikel/m}^3$ untuk konsentrasi $0,5\%$ namun hasil pengecekan untuk parameter ini cenderung tidak stabil.

Tabel 3. Pengukuran Total Partikel Ukuran $0,5\ \mu\text{m}$

| Konsentra si (%) | Titik Sampling Rerata (partikel/ m^3) | ISO 14644- 1 (partikel/ m^3) |
|---------------------|--|--|
| Blanko | 993.923 | |
| 0,1 | 2.329.135 | Maksimal |
| 0,3 | 1.500.548 | 3.520.000 |
| 0,5 | 2.150.265 | |



Gambar 1. Grafik Particle Size $0,5\ \mu\text{m}$

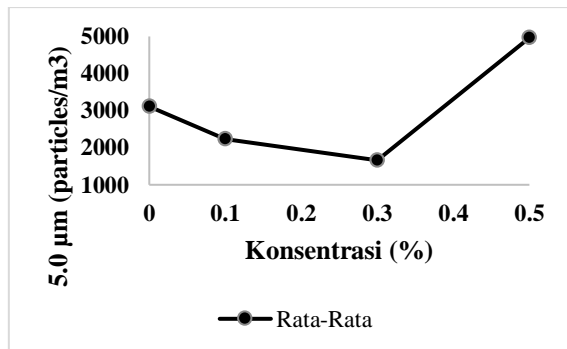
Bila dilihat dari gambar 1, semakin besar konsentrasi total partikel yang diperoleh cenderung naik dan tidak stabil. Hal ini disebabkan karena alat *diffuser* menggunakan proses pengkabutan pada saat pemakaiannya, sehingga debu dan asap yang dihasilkan dari *diffuser* terbaca oleh alat, sehingga ada kemungkinan partikel yang berasal dari kabut *diffuser* ikut terisap pada alat *particle counter* dan menambah jumlah partikel. Oleh karena itu untuk menentukan efektivitas minyak atsiri perlu dilakukan pengecekan untuk parameter lainnya karena ada kemungkinan penambahan total partikel berasal dari partikel tidak hidup seperti debu dan asap. Pada saat pengukuran konsentrasi $0,3\%$ bisa aja pada saat pengecekan ruangnya memang bersih (tidak ada pengotor tambahan), karena tujuan kita untuk mengetahui efektivitas anti mikroba, oleh karena itu uji partikel ini tidak bisa dijadikan satu-satunya acuan untuk menyimpulkan hasil penelitian ini, perlu didukung oleh uji tambahan seperti settle plate, MAS, dan contact plate.

Sama halnya dengan partikel ukuran $0,5\ \mu\text{m}$, partikel yang berukuran $5,0\ \mu\text{m}$ pada Tabel 4 juga cenderung naik dan tidak stabil. Untuk konsentrasi $0,1\%$ diperoleh rerata sebesar $2.226\ \text{partikel/m}^3$, $1.661\ \text{partikel/m}^3$

untuk konsentrasi 0,3%, dan 4.965 partikel/m³ untuk konsentrasi 0,5%. Kenaikan total partikel pada konsentrasi 0,5% diakibatkan pada saat pengujian ruangnya sudah ada pengotor tambahan seperti debu atau asap dari *diffuser*. Namun jika dibandingkan dengan standar ISO 14644-1 hasil pengecekan untuk total partikel masih sesuai dengan standar yang berlaku, baik untuk 0,5 μ m dan 5,0 μ m, yaitu kurang dari 3.520.000 dan 29.300 partikel/m³.

Tabel 4. Pengukuran Total Partikel Ukuran 5,0 μ m

| Konsentrasi (%) | Titik Sampling Rerata (partikel/m ³) | ISO 14644-1 (partikel/m ³) |
|-----------------|--|--|
| Blanko | 3.110 | |
| 0,1 | 2.226 | Maksimal 29.300 |
| 0,3 | 1.661 | |
| 0,5 | 4.965 | |



Gambar 2. Grafik *Particle Size* 5,0 μ m

Partikel yang terdapat di udara terdiri dari dua jenis, yaitu partikel hidup dan partikel tidak hidup. Partikel hidup ini meliputi bakteri, jamur, dan mikroorganisme lain yang dapat melayang di udara. Selain itu juga terdapat partikel tak hidup seperti debu, asap, dan kabut. Sehingga untuk menentukan efektivitas minyak atsiri perlu dilakukan pengecekan untuk parameter lain karena ada kemungkinan penambahan total

partikel dari partikel tak hidup. Pengecekan lanjutan yaitu dengan menggunakan media agar yang dapat menumbuhkan bakteri atau jamur.

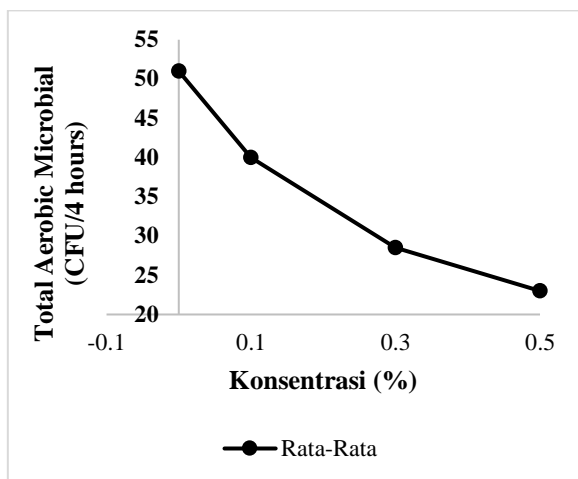
Settle Plate

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri di udara secara pasif. Menggunakan media agar yang dibiarkan di udara terbuka selama 4 jam lalu hasilnya diinkubasi pada suhu 30-35 °C selama 5 hari.

Berdasarkan Tabel 5, total mikroba yang diperoleh dengan metode *Settle Plate/Passive Air Sampling* dari konsentrasi 0% dalam satuan *Colony Form Unit (CFU)* diperoleh hasil rerata sebesar 51 CFU/4 jam. Bila dibandingkan dengan total bakteri pada konsentrasi 0,1%; 0,3%; dan 0,5%, ketiganya memiliki nilai total mikroba yang cenderung menurun. Untuk konsentrasi 0,1%, diperoleh rerata sebesar 40 CFU/4 jam. Untuk konsentrasi 0,3%, diperoleh rerata sebesar 29 CFU/4 jam. Sementara untuk konsentrasi 0,5%, diperoleh rerata sebesar 23 CFU/4 jam.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Total Mikroba secara *Settle Plate*

| Konsentrasi (%) | Titik Sampling Rerata (CFU/4 jam) | USP <1116>/EU GMP A.1 (CFU/4 jam) |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Blanko | 51 | |
| 0,1 | 40 | Maksimal 100 |
| 0,3 | 29 | |
| 0,5 | 23 | |



Gambar 3. Grafik *Settle Plate (Passive Air Sampling)*

Seperti yang terlihat di gambar 3, semakin tinggi konsentrasi maka semakin sedikit pertumbuhan bakteri pada media agar. Hal ini membuktikan bahwa adanya penurunan total mikroba sesuai dengan jumlah konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan ke dalam campuran cairan *diffuser*. 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 melisis sel membran [12].

MAS(*Active Air Sampling*)

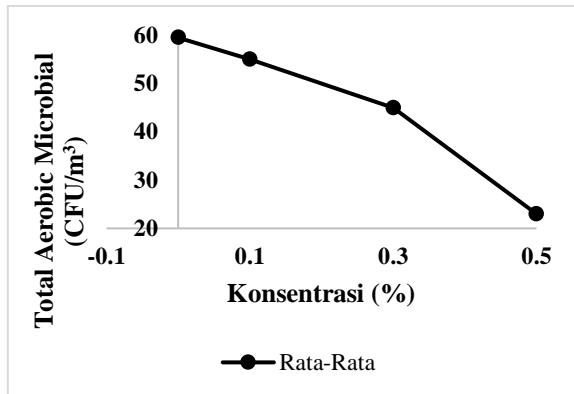
Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri aktif.

Menggunakan media agar yang dipasang pada alat MAS (*Microbiological Air Sampler*) dan alat akan menghisap udara sekitar selama 10 menit. Setelah dilakukan pengecekan, media agar yang telah dipasang pada alat diinkubasi pada suhu 30-35 °C selama 5 hari.

Berdasarkan tabel 6, total mikroba yang diperoleh dengan alat *Microbiological Air Sampler* metode *Active Air Sampling* dari konsentrasi 0% (blanko) diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 58 CFU/m³ dan 61 CFU/m³ pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 60 CFU/m³. Hasil ini masih lebih tinggi dari pengecekan konsentrasi 0,1% ; 0,3% ; dan 0,5% yang semuanya memiliki nilai total mikroba di bawah blanko dan cenderung menurun. Untuk konsentrasi 0,1%, diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 50 CFU/m³ dan 60 CFU/m³ pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 55 CFU/m³. Untuk konsentrasi 0,3%, diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 47 CFU/m³ dan 43 CFU/m³ pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 45 CFU/m³. Sementara untuk konsentrasi 0,5%, diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 36 CFU/m³ dan 10 CFU/m³ pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 23 CFU/m³.

Tabel 6. Hasil Pengukuran Total Mikroba secara MAS(*Active Air Sampling*)

| Konsentrasi (%) | Titik Sampling Rerata (CFU/m ³) | USP <1116>/EU GMP A.1 (CFU/m ³) |
|-----------------|---|---|
| Blanko | 60 | |
| 0,1 | 55 | Maksimal |
| 0,3 | 45 | 200 |
| 0,5 | 23 | |

**Gambar 4.** Grafik MAS(*Active Air Sampling*)

Sama seperti metode *Settle Plate*, dapat terlihat di gambar 4, semakin besar konsentrasi maka semakin sedikit pertumbuhan bakteri pada media agar. Hal ini membuktikan bahwa adanya penurunan total bakteri ketika konsentrasi minyak atsiri yang digunakan ditambahkan ke dalam campuran cairan *diffuser*. Semakin meningkatnya konsentrasi minyak atsiri biji pala semakin tinggi juga kandungan antibakteri dalam minyak atsiri pala tersebut, kandungan antibakteri tersebut 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 [13].

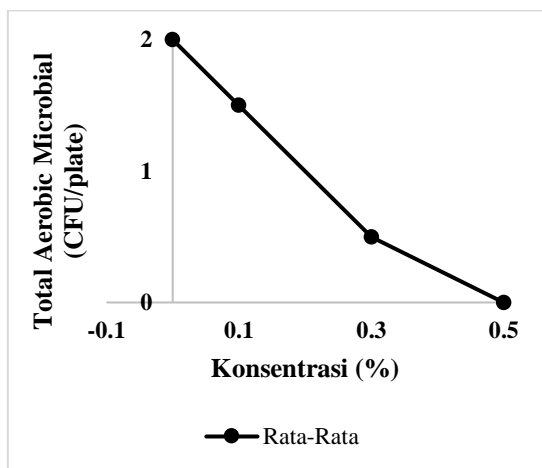
Contact Plate

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri dan jamur yang menempel di permukaan ruangan sekitar. Dengan menggunakan media agar yang ditempelkan di dinding atau lantai ruangan kemudian diinkubasi pada suhu 30-35 °C selama 5 hari.

Berdasarkan Tabel 7, total mikroba yang diperoleh dengan metode *Contact Plate* pada dinding ruangan dari konsentrasi 0% (blanko) diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 3 CFU/*plate* dan 1 CFU/*plate* pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 2 CFU/*plate*. Hasil ini masih berada di atas total bakteri dari konsentrasi 0,1% ; 0,3% ; dan 0,5% yang semuanya memiliki nilai total mikroba di bawah blanko dan cenderung menurun. Untuk konsentrasi 0,1%, diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 0 CFU/*plate* dan 3 CFU/*plate* pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 2 CFU/*plate*. Untuk konsentrasi 0,3%, diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 0 CFU/*plate* dan 1 CFU/*plate* pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 1 CFU/*plate*. Sementara untuk konsentrasi 0,5%, tidak terdapat pertumbuhan bakteri baik pada titik 1 dan titik 2, sehingga diperoleh rerata sebesar 0 CFU/*plate*.

Tabel 7. Hasil Pengukuran Total Mikroba secara *Contact Plate* (Dinding)

| Konsentrasi (%) | Titik Sampling Rerata (CFU/ <i>plate</i>) | USP <1116>/EU GMP A.1 (CFU/ <i>plate</i>) |
|-----------------|--|--|
| Blanko | 2 | |
| 0,1 | 2 | Maksimal |
| 0,3 | 1 | 25 |
| 0,5 | 0 | |



Gambar 5. Grafik *Contact Plate* (Dinding)

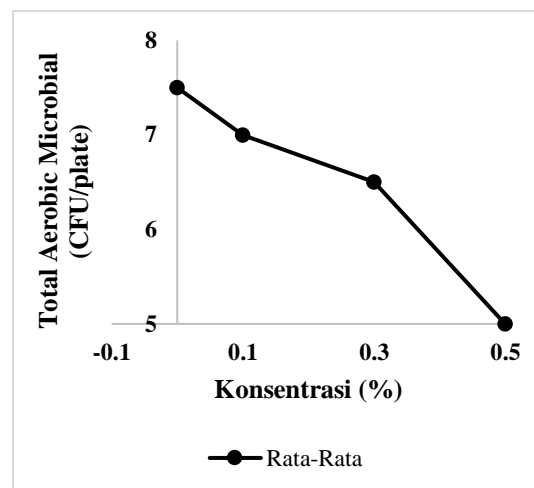
Seperti yang terlihat di gambar 5, semakin besar konsentrasi maka semakin sedikit pertumbuhan bakteri pada media agar. Hal ini membuktikan bahwa adanya penurunan total bakteri ketika konsentrasi minyak atsiri yang digunakan ditambahkan ke dalam campuran cairan *diffuser*. Hal ini disebabkan semakin tingginya kadar antibakteri dari fraksi safrol dan terpineol [13].

Berdasarkan Tabel 8, total mikroba yang diperoleh dengan metode *Contact Plate* pada lantai ruangan dari konsentrasi 0% (blanko) diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 8 CFU/plate dan 7 CFU/plate pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 8 CFU/plate. Hasil ini masih lebih tinggi dibandingkan total bakteri dari konsentrasi 0,1% ; 0,3% ; dan 0,5% yang semuanya memiliki nilai total mikroba di bawah blanko dan cenderung menurun. Untuk konsentrasi 0,1%, diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 3 CFU/plate dan 11 CFU/plate pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 7 CFU/plate. Untuk konsentrasi 0,3%, diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 5 CFU/plate dan 8 CFU/plate pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 7 CFU/plate. Sementara untuk konsentrasi

0,5%, diperoleh hasil pada titik 1 sebesar 5 CFU/plate dan 5 CFU/plate pada titik 2 sehingga diperoleh rerata sebesar 5 CFU/plate.

Tabel 8. Hasil Pengukuran Total Mikroba secara *Contact Plate* (Lantai)

| Konsentrasi (%) | Rerata (CFU/plate) | USP <1116>/EU GMP A.1 (CFU/plate) |
|-----------------|--------------------|-----------------------------------|
| Blanko | 8 | |
| 0,1 | 7 | Maksimal |
| 0,3 | 7 | 50 |
| 0,5 | 5 | |



Gambar 6. Grafik *Contact Plate* (Lantai)

Sama seperti pengecekan pada dinding ruangan, dapat terlihat di gambar 6, semakin besar konsentrasi maka semakin sedikit pertumbuhan bakteri pada media agar. Hal ini membuktikan bahwa adanya penurunan total bakteri ketika konsentrasi minyak atsiri yang digunakan ditambahkan ke dalam campuran cairan *diffuser*.

Seperti yang sudah terlihat pada grafik, terdapat kesamaan pada setiap metode yang didasarkan pada pertumbuhan jumlah mikroba. Dari hasil pengecekan, jumlah bakteri cenderung menurun yang artinya minyak yang dihasilkan memang efektif dalam mengurangi total bakteri

namun terlihat penurunan yang tidak signifikan. Minyak pala memiliki daya hambat yang kuat untuk bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* namun memiliki daya hambat yang lemah untuk jamur seperti *Aspergillus sp.* dan *Fusarium sp.* Sehingga hal ini bisa menjadi faktor penyebab hasil analisis [13].

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian Analisis Sifat dan Efektivitas Anti-mikroba Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica fragrans*) untuk Pemurnian Kualitas Udara pada Ruangan *ISO Class 8* dapat disimpulkan bahwa pemisahan minyak biji pala dengan metode *soxhletasi* didapatkan rendemen sebanyak 6,23%. Hasil pengujian komponen minyak atsiri biji pala mengandung senyawa *Myristicin*, β -*Pinene*, α -*Pinene*, *o*-*Cymene*, *4-Terpineol*, *Safrole*, α -*Terpineol*. Hasil pengujian pemanfaatan minyak biji pala setelah diaplikasikan pada alat *diffuser* untuk peningkatan kualitas udara yaitu untuk parameter *Total Particle* menunjukkan hasil yang tidak stabil seiring bertambahnya konsentrasi, namun bila dibandingkan dengan standar ISO 14644-1, hasil yang diperoleh masih sesuai dengan standar yang berlaku. Pengujian *Settle plate* menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang digunakan. Bila dibandingkan dengan standar USP <1116>/EU GMP A.1, hasil yang diperoleh sesuai dengan standar yang berlaku. Pengujian *Microbiological Active Air Sampling* menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang digunakan. Hasil masih sesuai standar USP <1116>/EU GMP A.1 yang berlaku. Pengujian *Contact Plate* menunjukkan adanya penurunan jumlah

bakteri seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang digunakan. Minyak atsiri biji pala yang diaplikasikan pada alat *diffuser* dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas udara sekitar. Namun penggunaan konsentrasi minyak biji pala harus disesuaikan dengan kebutuhan karena apabila terlalu tinggi dapat mengganggu sistem pernafasan. Pada lingkungan kerja khususnya pada laboratorium pengujian mikrobiologi dapat bermanfaat untuk kesehatan personil laboratorium serta meningkatkan keakuratan hasil pengujian.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Fakultas Teknologi Industri, Universitas Jayabaya yang telah memberikan pendanaan untuk penelitian ini dengan nomor kontrak: 71.003/KONTRAKPENELITIAN/FTI-UJ/XII/2020 hingga publikasi ini selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Nurdjannah, Nanah, Teknologi Pengolahan Pala, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta, 2007.
- [2] Aini, Siti Sofiatul, Karya Tulis Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang, 2019.
- [3] T. D. Ayunani, I. T. Hastuti, H. M. Ansory dan A. Nilawati, 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), J. Farm. Indonesia, 15, (2018) 88 – 99.
- [4] G. Refiadi and T. Usmadi, Rancang Bangun , Otomasi , dan Pengelolaan Biohazard Ruang Virology untuk Clean Room Industri Farmasi, J. Autom. Control Instrum., 8, (2016) 93–104.
- [5] Anonim, Minyak Pala, SNI 06-2388-2006, Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional, 2019.
- [6] The United States Pharmacopeia, Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing Environments (general Information Chapter 1116), Rockville, 2013.
- [7] Eudralex, EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use, Brussels, 2020.
- [8] C. Rangkuti, T. Sukarnoto, dan M. Rijani, Pembuatan minyak plastik dengan proses pirolisis, J. Tek. Mesin, 14, (2019) 1.
- [9] Arief, Fungsi Refraktometer, Kompasiana, www.kompasiana.com/anmlab/5dfc47f1097f3667f135ff52/fungsi-refraktometer, 2019, diakses 07 November 2020.
- [10] G. Hilda, F. Kaseke, dan D. Silalan, P, Identifikasi Sifat Fisika Kimia Minyak Pala Daratan Dan Kepulauan Di Sulawesi Utara, J. Penelitian Teknologi, 6, (2014) 55–62.
- [11] SAKA, Polarimeter dalam Analisis Kemurnian Minyak Atsiri (Essential Oil), SAKA, www.saka.co.id/news-detail/polarimeter-dalam-analisis-kemurnian-minyak-atsiri, SAKA, diakses 7 November 2020.
- [12] S. G. Sipahelut, J. A. Patty, Z. Patty, A. Y. Kastanja, dan V. N. J. Lekahena, The antibacterial and antifungal activity of essential oil derived from the flesh of nutmeg fruit, EurAsian J. Bioscience, 13, (2019) 93–98.
- [13] Parwata, I. M. O. A. dan P. F. S. Dewi, Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia Galanga L*), Jurnal Kimia, 2, (2008) 100-104.