UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK PALA (*Myristica fragrans*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Cutibacterium acnes* DAN *Staphylococcus epidermidis* PENYEBAB JERAWAT (*acne vulgaris*)

SKRIPSI

Oleh :

NATALIA

24482013014

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN SAMARINDA

SAMARINDA

2026

ABSTRAK

Jerawat (*acne vulgaris*) merupakan salah satu penyakit kulit yang sering dikaitkan dengan pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antibakteri adalah minyak pala (*Myristica fragrans*) karena mengandung berbagai senyawa aktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri serta konsentrasi hambat minimum (KHM) minyak pala terhadap *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* pada berbagai konsentrasi. Penelitian menggunakan metode eksperimen laboratorium dengan metode difusi sumuran. Minyak pala diuji pada konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50%. Klindamisin 0,1% digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dan dianalisis menggunakan SPSS melalui uji normalitas, homogenitas, *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA), dan uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak pala mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri pada seluruh konsentrasi yang diuji. Konsentrasi hambat minimum (KHM) minyak pala terhadap *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* diperoleh pada konsentrasi 5%. Rata-rata diameter zona hambat terhadap *Cutibacterium acnes* berturut-turut sebesar 2,00 mm, 5,56 mm, 8,89 mm, dan 13,22 mm, sedangkan terhadap *Staphylococcus epidermidis* berturut-turut sebesar 0,22 mm, 3,89 mm, 8,44 mm, dan 12,22 mm. Hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ pada kedua bakteri, sehingga terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok konsentrasi. Uji lanjut LSD menunjukkan seluruh kelompok perlakuan berbeda signifikan ($p < 0,05$). Disimpulkan bahwa minyak pala memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 5%, serta aktivitas penghambatannya meningkat seiring bertambahnya konsentrasi.

Kata Kunci: aktivitas antibakteri, *Cutibacterium acnes*, konsentrasi hambat minimum, minyak pala, *Myristica fragrans*, *Staphylococcus epidermidis*.

ABSTRACT

Acne vulgaris is a common skin disorder associated with the growth of *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. Nutmeg essential oil (*Myristica fragrans*) is a natural product with potential antibacterial activity due to the presence of various bioactive compounds. This study aimed to determine the antibacterial activity and the minimum inhibitory concentration (MIC) of nutmeg essential oil against *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* at different concentrations. This laboratory experimental study employed the agar well diffusion method. Nutmeg essential oil was tested at concentrations of 5%, 10%, 25%, and 50%. Clindamycin 0.1% was used as the positive control, while 1% dimethyl sulfoxide (DMSO) served as the negative control. The inhibition zone diameters were measured using a vernier caliper and analyzed using SPSS through normality and homogeneity tests, followed by One-Way Analysis of Variance (ANOVA) and the Least Significant Difference (LSD) post hoc test. The results showed that nutmeg essential oil inhibited the growth of both bacterial species at all tested concentrations. The minimum inhibitory concentration (MIC) of nutmeg essential oil against *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* was observed at a concentration of 5%. The mean inhibition zone diameters against *Cutibacterium acnes* were 2.00 mm, 5.56 mm, 8.89 mm, and 13.22 mm, respectively, while those against *Staphylococcus epidermidis* were 0.22 mm, 3.89 mm, 8.44 mm, and 12.22 mm, respectively. One-Way ANOVA showed statistically significant differences among the concentration groups for both bacterial species ($p < 0.05$). The LSD post hoc test also demonstrated significant differences among all treatment groups ($p < 0.05$). In conclusion, nutmeg essential oil exhibited antibacterial activity against *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 5%, and its inhibitory activity increased with increasing concentrations.

Keywords: antibacterial activity, *Cutibacterium acnes*, minimum inhibitory concentration, nutmeg essential oil, *Myristica fragrans*, *Staphylococcus epidermidis*.

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i
ABSTRAK ii
DAFTAR ISI iv
DAFTAR GAMBAR viii
DAFTAR TABEL ix
DAFTAR LAMPIRAN viiii
BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 2
C. Hipotesis 3
D. Tujuan Penelitian 3
E. Manfaat Penelitian 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4
A. Uraian Tanaman Pala 4
1. Klasifikasi 4
2. Sinonim/Nama Daerah 5
3. Khasiat dan Kegunaan 5
4. Kandungan Kimia 5
B. Ekstraksi 6
1. Ekstraksi Minyak Atsiri Penyulingan Air (*Water Destilation*) 6
2. Ekstraksi Minyak Atsiri Penyulingan Uap (*Steam Destilation*) 7
3. Ekstraksi Atsiri Secara Penyulingan Uap dan Air 7
C. Kromatografi Lapis Tipis 8
D. Bakteri 8
1. Pengertian Bakteri 8
2. Klasifikasi Bakteri 9
3. Bakteri *Cutibacterium acnes* 9
a. Klasifikasi Bakteri 9
b. Morfologi Bakteri *Cutibacterium acnes* 10
4. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* 11
a. Klasifikasi Bakteri 11
b. Morfologi Bakteri *Staphylococcus epidermidis* 11

E. Antibakteri 11
1. Pengertian Antibakteri 11
2. Mekanisme Kerja Antibakteri 12
a. Kerusakan pada dinding sel 12
b. Perubahan permeabilitas sel 12
c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat 12
d. Penghambatan kerja enzim 12
e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein 12
F. Pengendalian Mikroorganisme dengan Sterilisasi 13
1. Metode Sterilisasi Fisik 13
a. Sterilisasi Panas Kering 13
b. Sterilisasi Panas Basah 13
c. Sterilisasi Penyaring/ Filtrasi 13
d. Sterilisasi Radiasi 13
2. Metode Sterilisasi Kimia 14
G. Larutan *McFarland* 14
H. Uji Aktivitas Antibakteri 14
1. Metode Difusi 14
a. Metode *disk diffusion* (tes Kirby & Bauer) 14
b. Metode *E-test* 15
c. *Ditch-plate technique* 15
d. *Cup-plate technique* 15
e. *Gradient-plate technique* 16
2. Metode Dilusi 16
a. Metode Dilusi Cair (*Broth Dilution Test*) 16
b. Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Te*st) 16
I. Pengukuran Daya Hambat 16
BAB III METODE PENELITIAN 18
A. Rancangan Penelitian 18
B. Objek Penelitian 18
C. Sampel dan Teknik Sampling 18
D. Variabel Penelitian 18
1. Variabel bebas 18
2. Variabel terikat 19

3. Variabel kontrol 19
E. Definisi Operasional 19
F. Teknik Pengumpulan Data 20
1. Alat dan Bahan 20
a. Alat 20
b. Bahan 20
2. Prosedur Penelitian 20
a. Pengumpulan Sampel 20
b. Identifikasi Sampel 20
G. Uji Aktivitas Antibakteri ..... **Error! Bookmark not defined.**
1. Pembuatan Media 21
2. Sterilisasi Alat dan Bahan ..... **Error! Bookmark not defined.**
3. Peremajaan Bakteri 23
4. Pembuatan Larutan Standar *McFarland* 22
5. Pembuatan Suspensi Bakteri 23
6. Kontrol Kualitas Suspensi Bakteri ..... **Error! Bookmark not defined.**
7. Pembuatan Larutan Diametil Sulfoksida (DMSO) 1% .... **Error! Bookmark not defined.**
8. Pembuatan Larutan Kontrol Clindamycin 0,1% ..... **Error! Bookmark not defined.**
9. Pembuatan Seri Konsentrasi Minyak Pala .... **Error! Bookmark not defined.**
10. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Difusi Sumuran ... **Error! Bookmark not defined.**
11. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cair ..... **Error! Bookmark not defined.**
12. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi Padat 24
13. Destruksi Bakteri 24
H. Analisis Data 24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 186
A. Sampel Minyak Pala 24
B. Hasil Identifikasi Minyak Pala 24
C. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Pala Terhadap *Staphylococcus Epidermidis* 247
D. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Pala Terhadap *Cutibacterium Acnes* 249
E. Pembahasan 318

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 36
A. Kesimpulan.....36
B. Saran.....37
DAFTAR PUSTAKA.....39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Buah pala (*Myristica fragrans*).....4
Gambar 2 Bakteri *Cutibacterium acnes*.....9
Gambar 3. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* 11

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kriteria Daya Antibakteri 17
Tabel 2. Definisi Operasional 19
Tabel 3. Hasil Identifikasi Minyak Pala 26
Tabel 4. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Minyak Pala terhadap *Staphylococcus epidermidis* 27
Tabel 5. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Minyak Pala terhadap *Cutibacterium acnes* 29
Tabel 6. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 30
Tabel 7. Hasil Uji Normalitas (Shapiro–Wilk) 31
Tabel 8. Hasil Uji Homogenitas (Levene Test) 32
Tabel 9. Hasil Uji One-Way ANOVA 32
Tabel 10. Hasil Uji Lanjut Least Significant Difference (LSD) 33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Certificate of Analysis (CoA) Minyak Pala 57
Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Larutan DMSO 1%.....57
Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Larutan DMSO 1%.....58
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan Klindamisin 0,1% 59
Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Seri Konsentrasi Minyak Pala ……..60
Lampiran 5. Dokumentasi Sterilisasi Alat dan Bahan ……. 61
Lampiran 6. Dokumentasi Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) ……. 62
Lampiran 7. Dokumentasi Pembuatan Larutan Standar *McFarland* 0,5 ……..… 63
Lampiran 8. Dokumentasi Pembuatan Suspensi Bakteri …… 64
Lampiran 9. Dokumentasi Peremajaan Bakteri …… 65
Lampiran 10. Dokumentasi Uji Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Sumuran...66
Lampiran 11. Dokumentasi Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) …… 67
Lampiran 12. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat terhadap *Staphylococcus epidermidis* ……..... 68
Lampiran 13. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat terhadap *Cutibacterium acnes* ……..……..……..…… 69
Lampiran 14. Hasil Perhitungan Rata-rata Diameter Zona Hambat ….....….. 70
Lampiran 15. Output Uji Normalitas (Shapiro–Wilk) ……. 71
Lampiran 16. Output Uji Homogenitas (Levene Test) …… 72
Lampiran 17. Output Uji One-Way ANOVA …….. 73
Lampiran 18. Output Uji Lanjut Least Significant Difference (LSD) ……..….. 74
Lampiran 19. Data Mentah Hasil Penelitian …… 75
Lampiran 20. Surat Keterangan/Pelaksanaan Penelitian (jika ada) .....…….. 76

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jerawat yang dikenal dengan nama *acne vulgaris* yaitu suatu keadaan pori-pori kulit tersumbat sehingga menimbulkan kantung nanah yang meradang. *Acne vulgaris* sangat dikenal karena penyakit kulit yang penderitanya cukup besar (Antika *et al.*, 2020). Umumnya, masalah *acne vulgaris* dialami lebih dari 80% masyarakat usia 12-44 tahun dan muncul pada masa remaja usia (8-9 tahun) yaitu saat produksi hormon androgen meningkat drastis sehingga berimbas pada peningkatan sekresi keratin sebum (Sifatullah & Zulkarnain, 2021). Kondisi ini juga merupakan peradangan kronis pada folikel pilosebaseous (Awaloei *et al.*, 2021) yang terjadi ketika folikel rambut tersumbat oleh debu, kotoran, minyak dan sel kulit mati pada kulit yang ditandai dengan timbulnya kantung nanah yang menonjol pada wajah.

Bakteri yang menyebabkan *acne vulgaris* antara lain *Propionibacterium acnes* (saat ini dikenal dengan nama *Cutibacterium acnes*), *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* (Safrida *et al.*, 2019). *Cutibacterium acnes* adalah bakteri Gram positif yang secara morfologi dan susunannya termasuk kelompok bakteri *Corynebacteria*, tetapi tidak bersifat toksigenik. Bakteri ini memiliki peranan penting dalam patogenesis *acne vulgaris* dengan menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit. Asam lemak mengakibatkan inflamasi jaringan ketika berhubungan dengan sistem imun dan mendukung terjadinya peradangan. *Cutibacterium acnes* juga termasuk bakteri yang tumbuh lambat dan termasuk flora normal pada kulit (Zahrah *et al.*, 2018). Penyebab terjadinya peradangan juga diakibatkan karena adanya aktivitas dari kelenjar minyak yang sifatnya berlebihan dan diperburuk oleh infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan kurang terarah untuk mengatasi infeksi bakteri dapat memicu terjadinya resistensi (Rastuti *et al.*, 2011).

Hal ini mendorong pencarian alternatif pengobatan berbasis bahan alami, termasuk untuk masalah jerawat. Salah satu bahan alami yang memiliki potensi tinggi sebagai agen *anti-acne* adalah minyak pala (*Myristica fragrans*) (Tumauhi *et*

al., 2023). Pala paling sering digunakan sebagai bumbu dan minyak atsiri, di mana minyak atsiri biji pala banyak diarahkan untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh bakteri atau jamur (Herlyana *et al.*, 2024). Minyak atsiri biji pala mengandung komponen yang bersifat tidak menguap (*fixed oil*) berkisar 20–40% yang terdiri dari asam miristat, trimiristin, dan gliserida dari asam laurat, stearat, dan palmitat. Trimiristin bersama dengan asam miristat, miristisin, dan elimisin, telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antijamur (Idrus *et al.*, 2014) .

Demikian, penelitian yang secara spesifik menguji dan membandingkan efektivitas antibakteri minyak pala (*Myristica fragrans*) sebagai bahan aktif tunggal pada berbagai konsentrasi terhadap kedua bakteri penyebab jerawat utama (*Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*) masih perlu dieksplorasi lebih mendalam untuk mendukung pemanfaatannya sebagai bahan aktif *anti-acne* yang mandiri. Meskipun minyak pala telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri, penelitian yang mengkaji efektivitas minyak pala sebagai bahan aktif tunggal pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri utama penyebab jerawat, khususnya *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri minyak pala (*Myristica fragrans*) pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri tersebut. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam mengembangkan minyak pala sebagai kandidat bahan aktif alami yang efektif dalam mengatasi permasalahan jerawat.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah minyak pala *(Myristica fragrans)* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis?*
2. Berapa nilai zona hambat minyak pala pada *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*
3. Berapa nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari minyak pala *(Myristica fragrans)* terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis.*

C. Hipotesis

Minyak pala (*Myristica fragrans*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* serta memiliki nilai KHM terhadap kedua bakteri tersebut.

D. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri dan daya hambat minyak pala (*Myristica fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*.
2. Menentukan nilai zona hambat minyak pala (*Myristica fragrans*) pada pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis.*
3. Mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) minyak pala (*Myristica fragrans*) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis.*

E. Manfaat Penelitian

1. Membantu memperluas pengetahuan kepada peneliti dan pembaca mengenai minyak pala (*Myristica fragrans*).
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai landasan penelitian selanjutnya khususnya tentang minyak pala (*Myristica fragrans*).

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Tanaman Pala

Pala *(Myristica fragrans)* merupakan tanaman rempah asli Indonesia yang berasal dari Kepulauan Banda, Maluku. Sebagai tanaman hutan tropis, pala telah tersebar luas di berbagai wilayah Nusantara seperti Aceh, Sumatra Barat, Sulawesi Selatan, hingga Papua. Tanaman ini memiliki nilai ekonomi tinggi karena hampir seluruh bagian tanamannya, mulai dari daun, biji, hingga fuli (selaput biji), mampu menghasilkan minyak atsiri yang mengandung senyawa penting seperti miristisin dan *fragrance* (Ruhnayat dan Martini, 2015).

Secara komersial, pala merupakan komoditas ekspor penting dalam industri farmasi, kosmetik, dan makanan. Selain sebagai rempah, pala dikenal karena sifat antibakteri dan antijamur yang kuat, menjadikannya bahan kajian penting dalam penelitian berbasis bahan alam (Ginting *et al.*, 2017).



Gambar 2.1. Buah pala (*Myristica fragrans*)

1. Klasifikasi

   Tanaman Buah pala *(Myristica fragrans)* dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Rukmana, 2018)

   Divisi : Spermatophyta
   Class : Dicotyledonae
   Ordo : Myristicales
   Famili : Myristicaceae
   Genus : *Myristica*
   Spesies : *Myristica fragrans*

2. Sinonim/Nama Daerah

Tanaman pala memiliki beragam penyebutan lokal di Indonesia, di antaranya: Pala (Jawa, Sunda, Melayu), Fasane (Ambon), Gusora (Halmahera), Dulu (Nias), dan Gomora (Ternate) (Wahyuni dan Bermawie, 2015).

3. Khasiat dan Kegunaan

Bagian utama yang dimanfaatkan dari tanaman ini adalah biji dan daunnya sebagai penghasil minyak atsiri yang kaya akan senyawa bioaktif. Senyawa myristicin dan terpinene-4-ol di dalamnya merupakan komponen utama yang berfungsi sebagai agen antibakteri dan antifungal alami dalam industri pangan dan farmasi (Rastuti *et al.,* 2011; Pareta, 2022). Sementara itu, kandungan senyawa sabinene dan pinene digunakan sebagai bahan baku utama dalam pembuatan parfum, sabun antiseptik, dan produk kosmetik karena aroma khas serta kemampuan perlindungan biologisnya (Idrus *et al.,* 2014).

Dalam industri farmasi, minyak pala dimanfaatkan sebagai agen antimikroba untuk menghambat bakteri patogen, serta sebagai bahan aktif pencerah kulit (whitening agent) karena kandungan trimiristinnya yang tinggi. Selain itu, minyak ini digunakan dalam produk topikal untuk mengatasi masalah infeksi kulit serta sebagai antioksidan alami yang mampu menangkal radikal bebas (Idrus *et al.,* 2014).

4. Kandungan Kimia

Minyak pala merupakan salah satu jenis minyak atsiri unggulan yang memiliki profil senyawa kompleks untuk mendukung pengobatan serta bahan baku industri. Kandungan kimia utama dalam buah pala antara lain: 5-Octadecanoic acid 29,54%, Myristicin 14,83%, Phenol 12,40%, Terpineol 8,56%, dan 9-Octadecenoic 3,84% (Ginting *et al*., 2017). Selain itu, analisis melalui metode GC-MS menunjukkan adanya senyawa monoterpene penting lainnya seperti Sabinene 2,86%, Limonene 6,61%, Gamma-Terpinene 3,68%, serta Terpinene-4-ol 7,76% (Pareta, 2022).

Menurut Pareta (2022), senyawa-senyawa seperti alpha-pinene, beta-pinene, dan Terpinene-4-ol pada minyak atsiri pala memiliki aktivitas biologis yang signifikan, di mana senyawa-senyawa ini tergolong dalam kelompok monoterpene yang berperan sebagai antibakteri dan antifungal. Selain senyawa atsiri, biji pala juga mengandung lemak padat berupa trimiristin dengan kadar mencapai 85% yang

berpotensi besar sebagai bahan aktif alami dalam produk perawatan kulit (Idrus *et al.*, 2014). Hal ini membuktikan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder dalam pala, seperti kelompok fenol dan terpenoid, sangat efektif dalam merusak integritas dinding sel mikroba patogen, sehingga memperkuat posisinya sebagai bahan aktif alami yang multifungsi.

B. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan substansi atau zat campurannya dengan memanfaatkan pelarut yang sesuai. Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk memperoleh komponen bioaktif yang terdapat pada suatu bahan (Harbone, 1987). Terdapat beberapa prosedur yang biasa digunakan dalam proses ekstraksi, diantaranya adalah ekstraksi dengan pelarut atau maserasi, destilasi, sublimasi, pengepresan mekanik, dan supercritical fluid extraction (SFE) (Gritter *et al*., 1991). Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor utama yang berpengaruh terhadap keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang tepat adalah pelarut yang dapat menyari sebagian besar kandungan bahan aktif dalam simplisia yang diinginkan (Depkes RI, 2008). Beberapa faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan jenis pelarut diantaranya, kemampuan dalam penyarian bahan aktif, selektivitas, toksisitas, kemudahan dalam proses penguapan dan harga pelarut (Harbone, 1987). Selain itu, pemilihan pelarut juga harus berdasarkan pada kepolaran suatu zat dalam pelarut. Senyawa yang bersifat polar akan larut pada pelarut yang bersifat polar juga seperti etanol, air, methanol, dan butanol. Sedangkan senyawa non-polar, diantaranya n-heksana, kloroform, dan eter (Gritter *et al*., 1991).

1. Ekstraksi Minyak Atsiri Secara Penyulingan Air (*Water Destilation*)

Metode ekstraksi dengan penyulingan adalah dilakukan dengan cara menyuling bahan tanam sehingga mengalami kontak langsung dengan air mendidih. Uap air membawa minyak atsiri, setelah itu didinginkan dengan cara dialirkan melalui pendingin. Hasil penyulingan adalah minyak atsiri yang masih kotor atau belum murni. Proses ini cocok untuk minyak atsiri yang tidak hancur oleh pemanasan (Guenther, 2006). Bahan baku yang memanfaatkan untuk ekstraksi lazimnya dari daun atau bunga yang gampang berpindah didalam air dan tidak gampang hancur oleh uap air yang panas (Rismunandar, 1990).

Keuntungan dari penyulingan sederhana seperti ini berupa kemudahan dalam proses dan tidak memerlukan pengeluaran yang besar. Namun, akan menghasilkan minyak atsiri kualitas rendah, sedikit kadar minyaknya, sekali waktu terjadi proses hidrolisis ester, dan bercampurnya produk minyak dengan hasilnya sampingan (Rismunandar, 1990). Penyulingan seperti ini apabila digunakan maka bahan yang disuling akan berhubungan langsung dengan air panas dan kemungkinan akan mengambang atau mengapung di atas air dan bisa juga terendam seluruhnya, tergantung pada berat jenis dan jumlah bahan yang akan diproses. Air dididihkan secara langsung dengan bara api. Sejumlah bahan tanaman ada kalanya harus diproses dengan penyulingan air (contoh bung mawar, bunga-bunga jeruk) sewaktu terendam dan bergerak bebas dalam air mendidih (Rismunandar, 1990).

2. Ekstraksi Minyak Atsiri Secara Penyulingan Uap (*Steam Destilation*)

Penyulingan dengan uap sebaiknya dimulai dengan tekanan uap yang terendah (sekitar 0,5 – 1 bar). Setelah itu, secara berangsur-angsur tekanan di boiler ditingkatkan sampai suhu uap mencapai 150 ^{o}C dari tekanan mencapai 5 bar. Air dari boiler akan mendidih, lalu uapnya mengalir ke ketel suling yang sudah terdapat bahan didalamnya. Uap air akan menembus sel-sel bahan dan membawa uap minyak atsiri yang selanjutnya akan mengalir melalui kondensor. Di dalam kondensor, uap minyak akan mengembun menjadi cairan yang kemudian ditampung di tangki pemisah (Yuliani, 2012).

3. Ekstraksi Atsiri Secara Penyulingan Uap dan Air (*Water and Steam Destilation*)

Alat yang digunakan pada metode ini menyerupai dandang nasi. Jadi, didalam katel terdapat penyekat berulang dari lempeng besi yang berfungsi untuk memisahkan air dengan bahan bakunya. Proses penyulingan diawali dengan memasukkan air ke bagian dasar ketel sampai mengisi 1/3 bagian. Bahan bakunya disimpan atas lempeng penyekat. Bahan baku sebaiknya jangan terlalu pada karena akan mempersulit jalannya uap air untuk menembus bahan baku. Setelah itu, ketel ditutup rapat, lalu dipanaskan (Yuliani, 2012).

C. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal), kemudian pelat dimasukkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan) dan selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (Stahl, 1985). Senyawa yang akan dipisahkan akan dibawa oleh fase gerak dan bergerak melalui fase diam karena pengaruh diam berat atau lainnya. Komponen dari senyawa akan melewati fase diam dengan tingkatan yang berbeda sehingga memiliki faktor retensi yang berbeda juga (Kumar *et al.,* 2013).

Prinsip kerja KLT yaitu adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fase diam (plat KLT) menggunakan pipa kapiler, komponen-komponen dalam sampel akan teradsorpsi di dalam fase diam. Desobrsi adalah peristiwa ketika komponen yang teradsorpsi di fase diam didesak oleh fase gerak (eluen), terjadi persaingan antara eluen dan komponen untuk berikatan dengan fase diam. Elusi adalah peristiwa ketika komponen ikut terbawa oleh eluen. KLT dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam campuran secara kualitatif, yaitu dengan membandingkan Rf baku pembanding dengan Rf sampel. Selain itu, KLT merupakan teknik analisis yang sederhana, hemat biaya, mudah dilakukan, dan hanya dibutuhkan sedikit cuplikan sampel untuk analisisnya (Coskun, 2016).

D. Bakteri

1. Pengertian Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan mikroorganisme yang berukuran kecil atau organisme bersel tunggal yang hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Bakteri merupakan organisme yang jumlahnya paling banyak dibandingkan makhluk hidup lain yang tersebar luas didunia. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di darat, laut, udara, dan tempat-tempat ekstrim (Rini dan Rochmah, 2020).

2. Klasifikasi Bakteri

Menurut Pratiwi (2008) perbedaan respons terhadap pewarnaan gram dan struktur dinding bakteri, bakteri diklasifikasikan menjadi bakteri gram negatif dan gram positif.

a. Bakteri Gram Negatif

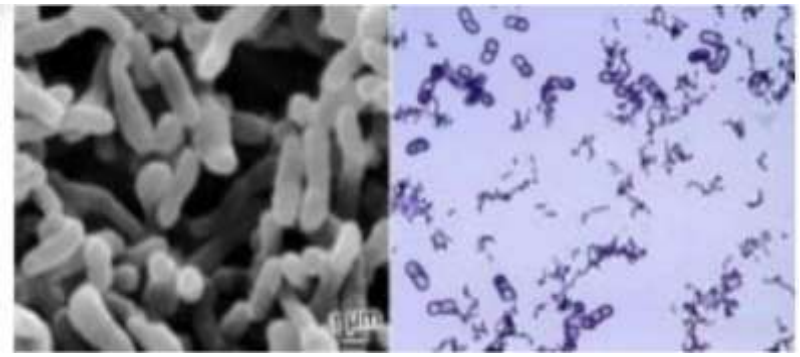
Bakteri gram negatif adalah bakteri yang pada dinding sel banyak mengandung lipopolisakarida. Kompleks crystal violet-iodin yang masuk ke dalam sel bakteri gram negatif, alkohol akan merusak lapisan lipoposakarida dan dapat tercuci serta menyebabkan sel bakteri tampak transparan, yang akan berwarna merah setelah diberi safranin.

b. Bakteri Gram Positif

Bakteri gram positif adalah bakteri yang memiliki dinding sel yang paling banyak mengandung peptidoglikan. Kompleks crystal violet-iodin yang masuk ke dalam sel bakteri gram positif tidak dapat tercuci oleh alkohol karena adanya lapisan peptidoglikan yang kokoh pada dinding sel.

3. Bakteri *Cutibacterium acnes*

a. Klasifikasi Bakteri



Gambar 2 Bakteri *Cutibacterium acnes*.

Sumber (cahyani, 2018)

Menurut Fitriani & Nur (2020), klasifikasi *Cutibacterium acnes* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Divisi : Actinobacteria
Kelas : Actinomycetia
Ordo : Propionibacteriales
Famili : Propionibacteriaceae
Genus : *Cutibacterium*
Spesies : *Cutibacterium acnes*

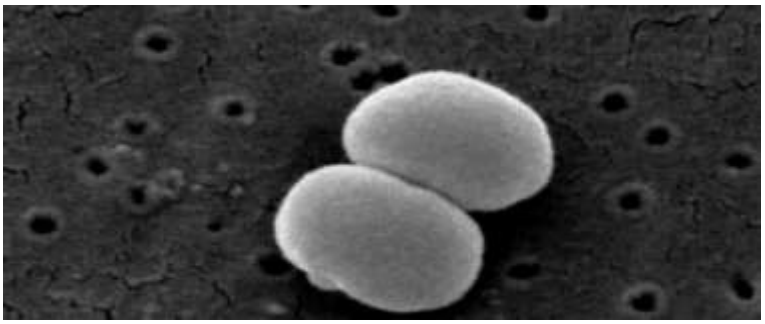
b. Morfologi Bakteri *Cutibacterium acnes*

Cutibacterium acnes adalah salah satu jenis mikrobiota penting pada kulit manusia. *Cutibacterium acnes* akan tumbuh lebih baik dalam kondisi anaerobik dan dapat menghasilkan berbagai metabolit yang memainkan peran penting dalam produksi vitamin B12 serta probiotik yang biasa digunakan dalam industri makanan dan kosmetik. Bakteri *Cutibacterium acnes* merupakan patogen oportunistik yang menyebabkan berbagai kondisi kulit tergantung pada lingkungan pertubuhan (Jang *et al*., 2022). *Cutibacterium acnes* tergolong bakteri anaerob Gram positif yang melekat pada batang rambut dan dinding epitel folikel. *Cutibacterium acnes* dianggap sebagai penyebab utama jerawat dan secara konsisten merupakan salah satu genera yang diketahui paling banyak ditemukan pada orang yang berjerawat. Jenis bakteri ini, telah terbukti hidup berdampingan dengan bakteri lainnya seperti *Corynebacteria* dan jamur simbiosis di daerah kulit yang lembab. Selain itu, *Cutibacterium acnes* telah terbukti membentuk biofilm pada folikel rambut dalam kelenjar sebaseus pada kebanyakan pasien berjerawat (Yu *et al.,* 2022).

Umumnya, *Cutibacterium acnes* dapat beradaptasi baik dengan habitat ekologisnya yang dicontohkan oleh peptidoglikan yang resisten terhadap lisozim, kepatuhan terhadap sebum dan pemanfaatan lipidnya secara efisien. Struktur dinding sel bakteri ini tebal dengan kandungan lipid yang tinggi memberikan peningkatan ketahanan terhadap tekanan lingkungan termasuk tekanan osmotik, konsentrasi ion, tekanan mekanik atau suhu (Kuehnast *et al.,* 2018). *Cutibacterium acnes* adalah bakteri flora normal yang ada pada kulit manusia dan jenis bakteri penghasil lipase yang sering dipecah menjadi trigliserida, salah satu komponen yang terkandung adalah sebum dan dipecah menjadi asam lemak bebas. Lemak bebas akan menjadi pertumbuhan yang baik bagi bakteri *Cutibacterium acnes* selanjutnya bakteri berakumulasi menjadi penyebab terjadinya peradangan dan akan membentuk komedo yang menjadi salah satu faktor dalam terbentuknya jerawat (Cahyani, 2018).

4. Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

a. Klasifikasi Bakteri



Gambar 3. Bakteri *Staphylococcus epidermidis*
Sumber : Nakatsuji *et al*., 2018

Kingdom : Protista
Divisi : Eukariota
Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus epidermidis* (Jawetz *et al*., 2013)

b. Morfologi Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Bakteri Staphylococcus memiliki ciri khas seperti sel-sel berbentuk bola. Berdiameter 0,5-1,5 µm, terdapat tunggal dan berpasangan, dan secara khas membelah diri pada satu bidang sehingga membentuk gerombol non-motil. Tidak diketahui adanya stadium istirahat. Gram positif dinding sel mengandung dua komponen utama, peptidoglikan serta asam terikat yang berkaitan dengannya, kemoorganotrof. Metabolisme dengan fermentatif dan respirasi. Anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan anaerobic (Syahrurachman *et al*., 1994). Aerobic atau aerob merupakan istilah yang digunakan untuk mengklasifikasikan bakteri yang memerlukan oksigen dengan metabolismenya. Sedangkan suhu optimum pertumbuhan 35-40°C.

E. Antibakteri

1. Pengertian Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang mengganggu.

Mikroorganisme dapat berbahaya karena memiliki kemampuan untuk menginfeksi dan menyebabkan penyakit serta merusak bahan pangan (Astriyai *et al.,* 2017).

2. Mekanisme Kerja Antibakteri

Menurut Pelczar dan Chan (2014), mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat atau mengubahnya mikroorganisme digolongkan sebagai berikut:

a. Kerusakan pada dinding sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembetukkannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma menahan zat tertentu di dalam sel dan mengatur masuk dan keluarnya zat lain. Membran menjaga integritas komponen seluler. Kerusakan membran ini menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel.

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul. Molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu keadaan atau zat yang mengubah keadaan ini, yaitu zat yang mendenaturasi protein dan asam nukleat, dapat merusak sel hingga tidak dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi terkonsentrasi dari beberapa bahan kimia dapat menyebabkan koagulasi (denaturasi) irreversibel (tidak dapat balik) dari komponen-komponen seluler penting ini.

d. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimiawi. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peran yang sangat penting dalam proses kehidupan normal sel. Artinya gangguan apa pun yang terjadi pada pembentukan atau fungsinya zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel secara menyeluruh.

F. Pengendalian Mikroorganisme dengan Sterilisasi

1. Metode Sterilisasi Fisik

Metode sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan cara panas, baik panas kering, panas basah, radiasi dan filtrasi.

a. Sterilisasi Panas Kering

Sterilisasi panas kering berfungsi untuk mematikan mikroorganisme dengan cara mengoksidasi komponen sel atau mendenaturasi enzim, tidak dapat digunakan untuk bahan yang terbuat dari karet atau plastik, waktu sterilisasinya 2-3 jam. Ada dua metode sterilisasi panas kering yaitu pembakaran dengan api bunsen dengan suhu 350°C dan menggunakan udara panas oven dengan temperature 160-170°C.

b. Sterilisasi Panas Basah

Sterilisasi panas basah digunakan untuk bahan yang sensitif panas. Selain itu metode ini juga digunakan untuk mensterilkan peralatan dan cairan dengan temperature 100°C selama 5-10 menit. Alat yang umum digunakan dalam sterilisasi ini adalah autoklaf. Prinsip autoklaf adalah terjadinya koagulasi lebih cepat dalam keadaan basah dibandingkan keadaan kering. Proses ini dapat membunuh mikroorganisme dengan cara mendenaturasikan atau mengkoagulasikan protein pada enzim dan membran sel. Adapun pengaturan suhu autoklaf adalah 121°C selama 15 menit.

c. Sterilisasi Penyaring/ Filtrasi

Metode ini digunakan untuk bahan yang sensitif terhadap panas seperti enzim. Membran filternya dibuat dari selulosa asetat. Kerugian dari metode ini adalah biayanya mahal, filter lebih mudah mampat sehingga harus sering diganti dan tidak dapat digunakan untuk menyaring virus. Jenis filter yang lain adalah filter HEPA (high efficiency particulate air), contohnya adalah LAF (*laminar air flow*). Filter ini digunakan untuk menyaring udara sehingga bebas debu dan bakteri, terdiri dari lipatan selulosa asetat.

d. Sterilisasi Radiasi

Sterilisasi radiasi umumnya menggunakan sinar UV atau ionisasi. Sinar UV digunakan untuk sterilisasi kabinet dan ruangan. Sedangkan ionisasi digunakan untuk mensterilkan bahan yang tidak dapat disterilisasi menggunakan panas seperti plastik sekali pakai, antibiotik, hormon dan jarum suntik (Pratiwi, 2008).

2. Metode Sterilisasi Kimia

Metode sterilisasi kimia dapat dilakukan dengan cara menggunakan bahan kimia. Adapun bahan yang dipilih adalah fenol dan persenyawaan fenolat, alkohol, halogen, logam berat serta persenyawaannya, detergen, aldehid dan kemosterilisator gas (Michael dan Chan, 1988).

G. Larutan McFarland

Menurut Avianty (2020) dengan standar *McFarland* yang paling umum digunakan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik adalah standar *McFarland* 0,5 yang setara dengan jumlah perkiraan suspensi bakteri yaitu 1,5 x 10^8 CFU/mL dimana standar tersebut merupakan dasar untuk percobaan kerentanan antibakteri dan percobaan hasil biakan bakteri. Larutan *McFarland* 0,5 biasa digunakan sebagai pembanding kekeruhan biakan bakteri dalam medium cair dengan kepadatan antara 1x 10^7 Sel/mL -1 x 10^8 Sel/mL. Sebanyak 0,5 mL barium klorida ($BaCl_2$) 1% ditambahkan 9,95 mL asam sulfat (H_2SO_4) 1%. Kemudian disimpan di tempat yang terhindar dari cahaya matahari langsung.

H. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tujuan diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Proses pengujiannya dilakukan dengan mengukur pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antibakteri (Aisyah, 2021). Berdasarkan Pratiwi, (2008) adapun macam cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut :

1. Metode Difusi
   a. Metode *disk diffusion* (tes Kirby & Bauer)

      Metode menggunakan cakram kertas saring yang berisi larutan antibakteri, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami

mikroorganisme sehingga agen antibakteri dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan media agar. Setelah itu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Daerah bening disekitar cakram menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen bakteri.

b. Metode *E-test*

Metode untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini cakram kertas yang mengandung larutan antibakteri dari konsentrasi terendah hingga tertinggi diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami oleh mikroorganisme uji. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang terlihat menunjukkan konsentrasi larutan antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

c. *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa larutan antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan kearah parit yang berisi agen antibakteri tersebut. Langkah selanjutnya yaitu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Adanya daerah bening disekitar parit menunjukkan hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri.

d. *Cup-plate technique*

Metode ini hamper sama dengan disk diffusion, tetapi teknik ini dibuat dengan sumur pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Adanya daerah bening disekitar parit menunjukkan hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri.

e. *Gradient-plate technique*

Metode ini menggunakan agen antibakteri dengan konsentrasi bervariasi yang ditambahkan pada media agar dan diletakkan dalam cawan petri dalam posisi miring. Lalu ditambahkan nutrisi kedua diatasnya dan diinkubasikan selama 24 jam agar agen antibakteri berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroorganisme uji digoreskan pada media dan dihitung panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

2. Metode Dilusi

a. Metode Dilusi Cair (*Broth Dilution Test*)

Metode ini digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antibakteri, dan diinkubasikan selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasikan ditetapkan sebagai KBM.

b. Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Te*st)

Metode ini mirip dengan metode dilusi cair, perbedaannya untuk metode ini menggunakan media padat. Keuntungan dari metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

I. Pengukuran Daya Hambat

Aktivitas suatu bakteri dapat dinyatakan Ketika terbentuk zona hambat yang berupa daerah jernih di sekeliling dari media pertumbuhan bakteri uji yang tidak ditumbuhi bakteri (Putri *et al*., 2016). Diameter zona hambat tersebut yang terbentuk dapat dihitung dengan jangka sorong (Pratiwi, 2008).

Kriteria kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut:

Tabel 1 Kriteria Daya Antibakteri (Davis dan Stout, 1971)

Diameter Zona Bening (mm)	**Kategori**
>20	Sangat Kuat
10 – 20	Kuat
5 – 10	Sedang
<5	Lemah

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan mengevaluasi aktivitas antibakteri minyak pala *(Myristica fragrans)* terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, dua bakteri utama yang berperan dalam patogenesis jerawat *(acne vulgaris).* Tahapan penelitian meliputi persiapan sampel minyak pala, sterilisasi alat, pembuatan media kultur anaerob dan aerob, pembuatan larutan *McFarland*, peremajaan bakteri, serta uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi pada periode April – mei 2026.

B. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak pala (*Myristica fragrans*) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* pada berbagai konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50%.

C. Sampel dan Teknik Sampling

Sampel yang digunakan adalah minyak pala. Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling. Purposive sampling* yaitu teknik pengambilan sampel sumber data dengan pertimbangan tertentu. Minyak pala yang digunakan memiliki *Certificate of Analysis* (CoA) untuk menjamin konsistensi mutu dan kandungan senyawa aktif. CoA tersebut meliputi indeks bias, bobot jenis, dan organoleptis yang sesuai dengan SNI.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel Bebas Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat. Variabel bebas penelitian ini adalah konsentrasi Minyak Pala 5%, 10%, 25%, dan 50% .

2. Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel terikat penelitian ini adalah zona hambat dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dari Minyak Pala terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*.

3. Variabel kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang mengontrol variabel bebas dan variabel terikat. Variabel kontrol penelitian adalah minyak pala, metode difusi sumuran, metode dilusi padat.

E. Definisi Operasional

1. Minyak Pala (*Myristica fragrans*) merupakan minyak atsiri hasil penyulingan dari bagian biji tanaman pala, digunakan sebagai bahan uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini
2. *Cutibacterium acnes* (sebelumnya *Propionibacterium acnes*) merupakan bakteri gram positif, anaerobik fakultatif, yang digunakan sebagai bakteri uji karena perannya sebagai faktor utama penyebab jerawat (*acne vulgaris*).
3. *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif yang digunakan sebagai bakteri uji karena perannya dalam menyebabkan infeksi sekunder dan peradangan pada kasus jerawat (*acne vulgaris*).
4. Zona Hambat adalah aktivitas antibakteri yang dinyatakan positif apabila terbentuk zona bening (daerah jernih) di sekitar media uji Minyak Pala, dan dihitung diameter zona yang terbentuk (dalam milimeter)
5. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi minimal Minyak Pala yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji (*Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*).
6. Difusi sumuran adalah metode uji yang digunakan dalam penelitian dengan membuat lubang yang berukuran 6 mm dengan menggunakan borer/alat bor sumuran pada media yang sudah menjadi agar (media lempeng) dan telah dinokulasi bakteri.

F. Teknik Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

   a. Alat

   Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoklaf, oven, *hot plate*, *beaker glass*, mikropipet, inkubator, desikator, pH meter, spektofotometer, gelas ukur, cawan petri, jarum *ose*, pinset, kapas, alat bor, , *laminar air flow* (LAF), tabung eppendorf, label, lampu spiritus, tabung reaksi, *vortex*, dan *yellow tip*. alumunium foil,jangka sorong, *Catton bad* steril.

   b. Bahan

   Bahan yang digunakan adalah Barium klorida ($BaCl_2$), Media Nutrient Agar (NA), bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, Minyak Pala, air suling, clindamycin 1% , dan Dimetil Sulfoksida (DMSO) 1%, alkohol 70%

2. Prosedur Penelitian

   a. Pengumpulan Sampel

   Sampel yang digunakan adalah Minyak Pala (*Myristica fragrans*.) murni hasil penyulingan yang diperoleh dari PT. Teramonesia – Gunung Putri, Bogor Jawa Barat.

   b. Identifikasi Sampel

   Kualitas minyak pala (*Myristica fragrans* Houtt.) yang digunakan dalam penelitian ini diidentifikasi berdasarkan *Certificate of Analysis* (CoA) yang disertakan oleh pemasok bahan. Parameter yang tercantum dalam CoA meliputi bobot jenis dan kandungan senyawa utama minyak pala (miristisin) sebagai parameter mutu bahan yang digunakan dalam penelitian

Berdasarkan data CoA, minyak pala yang digunakan memenuhi spesifikasi mutu yang ditetapkan oleh pemasok.

CoA lengkap dapat dilihat pada tabel 2.

Parameter	Spesifikasi	Hasil
Penampakan	Cairan bergerak (mobile liquid)	Sesuai Standar
Warna	Tidak berwarna hingga kuning pucat	Sesuai Standar
Aroma	Karakteristik pala (nutmeg)	Sesuai Standar
Berat Jenis pada 25°C	0,892 – 0,898	0,896
Indeks Bias pada 20°C	1,475 – 1,492	1,479
Miristisin (Myristicin)	8,0% – 15,0%	9,00%
Metil Eugenol (ME)	0,4% – 1,0%	0,34%
α-Pinena (α-Pinene)	15,50% – 20,00%	15,67%
Sabinena (Sabinene)	16,00% – 26,00%	21,78%
Safrol (Safrole)	1,4% – 2,2%	1,68%
Kelarutan	Larut dalam alkohol dan minyak, tidak larut dalam air	Sesuai Standar
Minyak Lemak (Fatty Oil)	Negatif	Negatif

c. Pengujian Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri minyak pala *(Myristica fragrans*) terhadap *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dan dilusi. Metode difusi sumuran digunakan untuk menentukan diameter zona hambat, sedangkan metode dilusi digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat gelas yang tahan akan pemanasan yang tinggi akan disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama $\pm$2 jam. Media NA, aquades dan alat-alat lain yang tidak tahan dengan pemanasan tinggi, akan disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama $\pm$ 15 menit. Sedangkan alat yang terbuat dari logam seperti ose dan pinset akan disterilkan dengan dicuci menggunakan alkohol dan dipijarkan langsung dengan menggunakan lampu spiritus hingga merah membara (Ismail *et al.*, 2022).

2. Pembuatan Media NA

Nutrient Agar (NA) dibuat dengan cara menimbang 14 gram, kemudian semua bahan tersebut dilarutkan dalam 500 mL aquadest. Larutan ini dipanaskan sambil diaduk hingga agar dan bahan lain larut sempurna. Setelah itu, media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk memastikan bebas dari mikroorganisme kontaminan. Setelah sterilisasi, media didinginkan hingga mencapai suhu sekitar 45-50°C sebelum dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptik. Media kemudian dibiarkan mengeras dan siap digunakan sebagai media kultur untuk menumbuhkan berbagai jenis mikroorganisme (Cappuccino & Sherman, 2014).

3. Pembuatan Larutan Standar *McFarland*

Dipipet larutan $BaCl_2$ 1% sebanyak 0,05 mL lalu di masukkan ke dalam tabung reaksi tutup ulir. Selanjutnya dipipet larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL. Campurkan kedalam tabung reaksi tutup ulir yang sudah berisi larutan $BaCl_2$ 1%. Larutan ini di vortex sampai tercampur sempurna (Rosmania dan Yanti, 2020).

4. Pembuatan Seri Konsentrasi Minyak Pala

Larutan minyak pala dibuat dengan perhitungan (b/v) dan menggunakan DMSO 1% sebagai pelarut. Total larutan yang dibuat pada masing-masing konsentrasi adalah 1 mL.

a. Konsentrasi 5 %

Diukur 0,05 mL minyak pala, kemudian ditambahkan DMSO 1% 0,95 mL hingga volume 1 mL ke dalam tabung eppendorf menggunakan mikropipet. Setelah itu diaduk menggunakan vortex selama 10 detik sebelum digunakan untuk uji.

b. Konsentrasi 10 %

Diukur 0,1 mL minyak pala, kemudian ditambahkan DMSO 1% 0,9 mL hingga volume 1 mL ke dalam tabung eppendorf menggunakan mikropipet.

Setelah itu diaduk menggunakan vortex selama 10 detik sebelum digunakan untuk uji.

c. Konsesntrasi 25 %

Diukur 0,25 mL minyak pala, kemudian ditambahkan DMSO 1% 0,75 mL hingga volume 1 mL ke dalam tabung eppendorf menggunakan mikropipet. Setelah itu diaduk menggunakan vortex selama 10 detik sebelum digunakan untuk uji.

d. Konsentrasi 50 %

Diukur 0,5 mL minyak pala, kemudian ditambahkan DMSO 1% 0,5 mL hingga volume 1 mL ke dalam tabung eppendorf menggunakan mikropipet. Setelah itu diaduk menggunakan vortex selama 10 detik sebelum digunakan untuk uji.

5. Pembuatan larutan kontrol negatif dan kontrol positif
   a. Pembuatan kontrol positif, ditimbang klindamisin 1%, serbuk klindamisin lalu dilarutkan dengan DMSO 1 % hingga 10 mL dan diaduk hingga homogen.
   b. Pembuatan kontrol negatif DMSO 1% di ambil 1 mL larutan DMSO kemudian diencerkan dengan aquadest ke dalam 9 mL diaduk hingga homogen.

6. Pembuatan Suspensi Bakteri

   Biakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *cutibacterium acnes* yang telah diinokulasi diambil menggunakan ose steril dan dimasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl steril 1 mL. Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C lalu dibandingkan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland 0,5 (Dima et al., 2016).

7. Peremajaan Bakteri

Dituang sekitar 5 mL media Nutrien Agar (NA) ke dalam tabung reaksi, kemudian ditutup dengan kapas, didiamkan pada suhu kamar sampai sediaan memadat pada posisi miring 45°. Media agar digunakan untuk peremajaan bakteri (Mujipradhana et al., 2018) Biakan *Staphylococcus epidermidis* dan *Cutibacterium acnes* diambil dengan ose lalu ditanamkan pada media, kemudian inkubasi pada suhu 37° dalam selama 24 jam.

8. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Pala

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Dilakukan pengerjaan aseptis di dalam Laminar Air Flow disiapkan 15 cawan petri, dimasukkan media Nutrien agar (NA) steril 35 mL, yang telah didinginkan hingga suhu 50°C, kemudian diamkan selama 5-10 menit hingga memadat. Ambil 1 mL suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Cutibacterium acnes* menggunakan mikropipet lalu ditetes di atas media NA yang telah memadat. Dilakukan perlubangan menggunakan silinder logam dengan diameter 6 mm dan tinggi 10 mm, untuk membuat sumuran pada media-media tersebut (Henaulu dan Kaihena, 2020). Tiap 1 cawan petri yang berisi media pengujian utama dibuat 4 lubang sumuran untuk 4 variasi konsentrasi minyak atsiri pala (*Myristica fragrans*) yaitu konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50%, kemudian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali menggunakan cawan petri yang berbeda untuk masing-masing bakteri, dengan volume tiap sumuran sebanyak 30ul. Untuk pengujian kontrol, dibuat secara terpisah pada cawan petri tersendiri dengan ketentuan 1 lubang sumuran tiap cawan; terdiri dari 3 cawan petri sebagai replikasi untuk kontrol positif dan 3 cawan petri sebagai replikasi untuk kontrol negatif (Saputera et al., 2019). Kemudian seluruh cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam, lalu diukur diameter daya hambat (mm) menggunakan jangka sorong dari masing-masing sampel (Sa'adah et al., 2023).

9. Destruksi Bakteri

Destruksi bakteri dilakukan dengan cara memasukkan semua alat yang digunakan dalam uji efektivitas antibakteri dalam autoklaf dan dilakukan proses destruksi dengan suhu 121^{o}C selama 30 menit (Kumala, 2014).

G. Analisis Data

Data hasil uji aktivitas antibakteri yang dikumpulkan berupa diameter zona hambat (mm) dari setiap variasi konsentrasi minyak uji, yang kemudian dihitung nilai rata-ratanya dan disajikan dalam bentuk tabel serta grafik. Analisis statistik dilakukan menggunakan metode One-Way ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas antibakteri yang signifikan antar kelompok perlakuan. Pengambilan keputusan statistik didasarkan pada nilai probabilitas (p) di mana

jika $p < 0,05$, maka H_0 Ditolak (terdapat perbedaan signifikan) dan analisis dilanjutkan dengan uji lanjut LSD (*Least Significant Difference*) untuk menentukan kelompok konsentrasi mana yang memiliki perbedaan nyata. Sebaliknya, jika $p \geq 0,05$, maka H_0 diterima yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok. Selain itu, penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan secara deskriptif berdasarkan tingkat kejernihan media pada uji dilusi cair serta ada atau tidaknya pertumbuhan koloni bakteri pada media agar pada uji dilusi padat (Purnomo dan Syamsul, 2017).

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Sampel minyak pala

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak pala (*Myristica fragrans* yang diperoleh dari PT Teramonesia, Gunung Putri, Bogor, Jawa Barat. Sampel berupa minyak atsiri murni yang telah dilengkapi dengan *Certificate of Analysis* (CoA). Penggunaan sampel dari satu pemasok bertujuan untuk memperoleh bahan yang homogen sehingga dapat meminimalkan variasi hasil selama pengujian aktivitas antibakteri. Sebelum digunakan dalam pengujian, sampel diidentifikasi berdasarkan data CoA untuk memastikan kesesuaian mutu dan karakteristik minyak pala yang digunakan

B. Hasil Identifikasi Minyak Pala

Identifikasi minyak pala dilakukan berdasarkan data *Certificate of Analysis* (CoA) yang diperoleh dari pemasok bahan. Identifikasi ini bertujuan untuk memastikan bahwa minyak pala memenuhi spesifikasi mutu dan layak digunakan sebagai bahan uji. Berdasarkan hasil identifikasi, minyak pala memiliki karakteristik berupa cairan bergerak (mobile liquid), tidak berwarna hingga kuning pucat (colorless to pale yellow), serta memiliki aroma khas pala (characteristic nutmeg). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa minyak pala memiliki bobot jenis sebesar 0,896 pada suhu 25 derajat Celsius dan indeks bias sebesar 1,479 pada suhu 20 derajat Celsius. Selain itu, kandungan miristisin sebesar 9,00 persen, alfa-pinene sebesar 15,67 persen, sabinene sebesar 21,78 persen, dan safrole sebesar 1,68 persen. Seluruh parameter tersebut memenuhi spesifikasi mutu yang dipersyaratkan oleh pemasok. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut diduga kuat berperan penting terhadap aktivitas antibakteri minyak pala melalui mekanisme gangguan pada membran sel bakteri. Hasil identifikasi selengkapnya tertera pada Tabel 4.1.

Tabel 3 Hasil Identifikasi Minyak Pala berdasarkan CoA

Parameter	Spesifikasi	Hasil	Keterangan
Penampakan	Cairan bergerak	Sesuai Standar	Memenuhi
Warna	Tidak berwarna – kuning pucat	Sesuai Standar	Memenuhi
Bau	Khas pala	Sesuai Standar	Memenuhi
Bobot Jenis (25°C)	0.892 – 0.898	0.896	Memenuhi
Indeks Bias (20°C)	1.475 – 1.492	1.479	Memenuhi
Miristisin	8.0% – 15.0%	9.00%	Memenuhi
Alfa-Pinene	15.50% – 20.00%	15.67%	Memenuhi
Sabinene	16.00% – 26.00%	21.78%	Memenuhi
Safrole	1.4% – 2.2%	1.68%	Memenuhi
Kelarutan	Larut dalam alkohol dan minyak	Sesuai Standar	Memenuhi
Minyak Lemak	Negatif	Negatif	Memenuhi

C. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak pala terhadap *Staphylococcus epidermidis.*

Pengujian aktivitas antibakteri minyak pala terhadap *Staphylococcus epidermidis* dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50%. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Diameter zona hambat diperoleh dari rata-rata pengukuran horizontal dan vertikal yang kemudian dikurangi diameter sumuran yaitu 6 mm. Hasil pengukuran disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Minyak Pala terhadap *Staphylococcus epidermidis.*

Konsentrasi	Replikasi I (mm)	Replikasi II (mm)	Replikasi III (mm)	Rata-rata (mm)	Kategori
5%	0,30	0,15	0,20	0,22	Lemah
10%	2,05	2,10	2,15	2,10	Lemah
25%	8,70	8,55	8,70	8,65	Sedang
50%	12,35	12,05	12,25	12,22	Kuat
Kontrol Positif Klindamisin 0,1%	24,10	23,80	23,90	23,93	Sangat Kuat
Kontrol Negatif DMSO 1%	0,00	0,00	0,00	0,00	Tidak Ada

Berdasarkan Tabel 4. minyak pala mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* pada seluruh konsentrasi yang diuji. Diameter zona hambat menunjukkan peningkatan seiring bertambahnya konsentrasi minyak pala. Konsentrasi 5% menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 0,22 mm dan konsentrasi 10% sebesar 2,10 mm yang keduanya termasuk kategori lemah. Pada konsentrasi 25% diperoleh rata-rata zona hambat sebesar 8,65 mm dengan kategori sedang, sedangkan konsentrasi 50% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 12,22 mm yang termasuk kategori kuat. Sebagai pembanding, kontrol positif klindamisin 0,1% menghasilkan zona hambat sebesar 23,93 mm dengan kategori sangat kuat, sedangkan kontrol negatif DMSO 1% tidak menunjukkan adanya zona hambat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi minyak pala diikuti oleh peningkatan kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*. Semakin tinggi konsentrasi minyak pala, semakin banyak senyawa aktif yang berdifusi ke dalam media agar sehingga diameter zona hambat yang terbentuk menjadi semakin besar. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri minyak pala bersifat ***dose-dependent***, yaitu efektivitas penghambatan bakteri meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi minyak pala. Menurut Davis dan Stout (1971), diameter zona hambat yang semakin besar menunjukkan aktivitas antibakteri yang semakin kuat sehingga hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi minyak pala memberikan pengaruh langsung terhadap efektivitas penghambatan pertumbuhan bakteri.

Konsentrasi 5% merupakan konsentrasi terendah yang masih mampu menghasilkan zona hambat sehingga pada penelitian ini ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *Staphylococcus epidermidis*. Walaupun daya hambat yang dihasilkan masih tergolong lemah, terbentuknya zona bening menunjukkan bahwa minyak pala telah memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut. Aktivitas antibakteri ini diduga berasal dari kandungan senyawa aktif minyak pala seperti sabinene, α-pinene, myristicin, dan safrole yang berdasarkan hasil identifikasi CoA terdapat dalam minyak pala yang digunakan pada penelitian ini. Senyawa-senyawa tersebut termasuk golongan terpenoid yang bersifat hidrofobik sehingga mampu

berinteraksi dengan membran sel bakteri, meningkatkan permeabilitas membran, menyebabkan kebocoran komponen intraseluler, dan akhirnya menghambat metabolisme serta pertumbuhan bakteri. Mekanisme tersebut sesuai dengan teori Pelczar dan Chan yang menyatakan bahwa antibakteri dapat bekerja melalui perubahan permeabilitas membran sel serta kerusakan komponen penting sel bakteri. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Herlyana et al. (2024), Ginting et al. (2017), dan Pareta et al. (2022) yang melaporkan bahwa minyak pala memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif karena kandungan senyawa terpenoid dan fenolik yang mampu merusak struktur membran sel bakteri.

Untuk memperkuat hasil penelitian, dilakukan analisis statistik menggunakan uji One-Way ANOVA setelah data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas. Hasil uji menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,001 sehingga terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok konsentrasi minyak pala terhadap diameter zona hambat *Staphylococcus epidermidis*. Uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD) menunjukkan bahwa hampir seluruh pasangan perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil tersebut membuktikan bahwa peningkatan konsentrasi minyak pala memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan aktivitas antibakteri sehingga efektivitas minyak pala dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi yang digunakan.

D. Analisis Statistik Aktivitas Antibakteri Minyak Pala terhadap *Cutibacterium acnes*.

Pengujian aktivitas antibakteri minyak pala terhadap *Cutibacterium acnes* dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50%. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Diameter zona hambat diperoleh dari rata-rata pengukuran horizontal dan vertikal yang kemudian dikurangi diameter sumuran sebesar 6 mm. Hasil pengukuran diameter zona hambat minyak pala terhadap *Cutibacterium acnes* disajikan pada Tabel 5

Tabel 5 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Minyak Pala terhadap *Cutibacterium acnes.*

Konsentrasi	Replikasi I (mm)	Replikasi II (mm)	Replikasi III (mm)	Rata-rata (mm)	Kategori
5%	2,0	2,0	2,0	2,0	Lemah
10%	4,35	4,3	4,3	4,32	Lemah
25%	10.05	10,25	10,3	10,2	Kuat
50%	13,6	13,25	12,8	13,22	Kuat
Kontrol Positif Klindamisin 0,1%	28,35	30,20	31,20	29,92	Sangat Kuat
Kontrol Negatif DMSO 1%	0,00	0,00	0,00	0,00	Tidak Ada

Berdasarkan Tabel 4.3, minyak pala mampu menghambat pertumbuhan *Cutibacterium acnes* pada seluruh konsentrasi yang diuji. Diameter zona hambat menunjukkan peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi minyak pala. Konsentrasi 5% menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 2,00 mm dan konsentrasi 10% sebesar 4,32 mm yang keduanya termasuk kategori lemah. Pada konsentrasi 25% diperoleh rata-rata zona hambat sebesar 10,20 mm yang termasuk kategori kuat, sedangkan konsentrasi 50% menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 13,22 mm dan juga termasuk kategori kuat. Sebagai pembanding, kontrol positif klindamisin 0,1% menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 29,92 mm yang termasuk kategori sangat kuat, sedangkan kontrol negatif DMSO 1% tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak pala yang diberikan, semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas antibakteri minyak pala terhadap *Cutibacterium acnes* bersifat **dose-dependent**, yaitu efektivitas penghambatan bakteri meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi minyak pala. Semakin tinggi konsentrasi minyak pala, semakin banyak senyawa aktif yang berdifusi ke dalam media agar sehingga kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri menjadi semakin besar.

Konsentrasi 5% merupakan konsentrasi terendah yang masih mampu menghasilkan zona hambat sehingga pada penelitian ini ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *Cutibacterium acnes*. Meskipun diameter zona hambat yang dihasilkan masih tergolong kecil, terbentuknya daerah bening di sekitar sumuran menunjukkan bahwa minyak pala telah memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut. Aktivitas antibakteri minyak pala diduga berasal dari kandungan senyawa aktif berupa sabinene, α-pinene, myristicin, dan safrole yang berdasarkan hasil identifikasi *Certificate of Analysis* (CoA) terdapat dalam minyak pala yang digunakan pada penelitian ini. Senyawa-senyawa tersebut merupakan golongan terpenoid yang bersifat hidrofobik sehingga mampu berinteraksi dengan membran sel bakteri. Interaksi tersebut menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel, kebocoran komponen intraseluler, serta terganggunya proses metabolisme bakteri sehingga pertumbuhan bakteri dapat dihambat. Mekanisme tersebut sesuai dengan teori Pelczar dan Chan (2014) yang menyatakan bahwa senyawa antibakteri dapat bekerja melalui perubahan permeabilitas membran sel, kerusakan komponen penting sel, maupun penghambatan aktivitas enzim yang berperan dalam metabolisme bakteri.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Herlyana et al. (2024), Ginting et al. (2017), dan Pareta et al. (2022) yang melaporkan bahwa minyak pala memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif, termasuk bakteri penyebab jerawat, karena kandungan senyawa terpenoid dan senyawa fenoliknya mampu merusak membran sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian sel bakteri. Kemampuan minyak pala dalam menghambat pertumbuhan *Cutibacterium acnes* pada penelitian ini menunjukkan potensinya sebagai bahan antibakteri alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai alternatif terapi jerawat (*acne vulgaris*).

Untuk memperkuat hasil penelitian, dilakukan analisis statistik menggunakan uji One-Way ANOVA setelah data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas. Hasil analisis menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,001 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok konsentrasi minyak pala terhadap diameter zona hambat *Cutibacterium acnes*. Uji lanjut *Least Significant*

Difference (LSD) menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan ($p<0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi minyak pala memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan aktivitas antibakteri. Dengan demikian, hasil uji statistik mendukung hasil pengamatan secara deskriptif bahwa efektivitas antibakteri minyak pala terhadap *Cutibacterium acnes* dipengaruhi oleh konsentrasi yang digunakan.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data mengenai uji aktivitas antibakteri minyak pala (*Myristica fragrans* Houtt.) terhadap bakteri penyebab jerawat, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Minyak pala (*Myristica fragrans* Houtt.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Cutibacterium acnes*, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada seluruh variasi konsentrasi yang diuji, yaitu 5%, 10%, 25%, dan 50%. Hasil analisis statistik menggunakan uji One-Way ANOVA menunjukkan bahwa variasi konsentrasi minyak pala memberikan pengaruh yang signifikan terhadap diameter zona hambat yang dihasilkan ($p < 0,05$).
2. Aktivitas antibakteri minyak pala meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi (dose-dependent effect). Konsentrasi 50% menunjukkan aktivitas antibakteri paling optimal dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,22 mm terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan 13,22 mm terhadap *Cutibacterium acnes*, yang termasuk dalam kategori daya hambat kuat.
3. Berdasarkan hasil pengujian, *Cutibacterium acnes* memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi terhadap minyak pala dibandingkan *Staphylococcus epidermidis*. Hal ini ditunjukkan oleh rata-rata diameter zona hambat yang lebih besar pada setiap variasi konsentrasi minyak pala yang diberikan.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, saran yang dapat diberikan untuk pengembangan penelitian selanjutnya adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengembangan formulasi minyak pala (*Myristica fragrans* Houtt.) ke dalam bentuk sediaan topikal antijerawat, seperti gel, krim, serum, atau nanoemulsi, disertai pengujian

mutu fisik, stabilitas, keamanan, dan efektivitas sediaan sehingga dapat dikembangkan sebagai produk yang lebih aplikatif.

2. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri minyak pala terhadap isolat klinis bakteri penyebab jerawat yang telah mengalami resistensi antibiotik, sehingga potensi minyak pala sebagai alternatif terapi antibakteri dapat dikaji secara lebih komprehensif.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi dan karakterisasi senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri dalam minyak pala, serta pengujian mekanisme kerjanya terhadap bakteri penyebab jerawat guna mendukung pengembangan bahan alam sebagai kandidat agen antijerawat.

DAFTAR PUSTAKA

Aisyah, N. (2021). Analisis Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negri Ar-Raniry. Banda Aceh.

Antika R., N., Nita N. & Ervina M. (2020). Peningkatan pemahaman remaja tentang bakteri *Propionibacterium acnes* bagi kesehatan kulit. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 4(3), 557-562. https://journal.unilak.ac.id/index.php/dinamisia/article/view/3499.

Astriyai, W., Surwardojo, P., & Susilorini, T. K. (2017). Daya hambat ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) dengan pelarut etanol dan aquadest terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis pada sapi perah. *Jurnal Ternak Tropika*, 18(2), 8–13.

Aviany, H. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan Sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Ejournal2.Undip.ac.id*, 3(2).

Awaloei, Y. M., Nawanto, A. P. & Regina R. (2021). The correlation between skin type and acne scar severity in young adults. Indonesian *Journal of Medicine and Health*, 12(1), 52-57. https://journal.uii.ac.id/JKKI.

Badan Standardisasi Nasional. (2006). SNI 06-2388-2006: *Minyak pala*. ICS 71.100.60, hlm. 1–12.

Bahri, S., & Rinawati. (2005). Kromatografi Lapis Tipis dan Karakterisasi Senyawa Aktif Miristisin dari Biji Pala. *Jurnal Penelitian Sains*, 9(1), 15-22

Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A Laboratory Manual* (10th ed.). Pearson Education.

Cahyani, R. D. (2018). Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat buah Cerbera manghas L. terhadap *Propionibacterium acnes* dengan metode difusi cakram. *Skripsi*. https://eprints.umm.ac.id/41861/1/Pendahuluan.pdf.

Coskun, O. (2016). Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul*, 3(2), 156–160.

Crisdian, H. A., & A, K. S. (2021). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Johar (Cassia siamea Lamk.) dan Daun Alpukat (Persea americana Mill.) terhadap Salmonella Typhi. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2), 133-140. https://doi.org/2.1172.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2020). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute

Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. Microbiology, 22(4), 659-665.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia (Edisi I)*. Jakarta

Fitriani & Nur H. (2020). Efek antimikroba ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes* secara in vitro. Institutional Repository. https://eprints.umm.ac.id/58468/.

Ginting, B., Mustanir, M., Helwati, H., Desiyana, LS., Eralisa, E. and Mujahid, R. (2017). Antioxidant Activity of N-Hexane Extract of Nutmeg Plants from South Aceh Province. *Jurnal Natural*, Vol 17(1): 39.

Gritter, R. J., Bobbit, J. M., & Schwarting, A. E. (1991). *Pengantar Kromatografi* (Terjemahan S. Ketaren, Ed. 2). Bandung: ITB

Guenther, E. (2006). Minyak Atsiri (Jilid I). Jakarta: Universitas Indonesia Press. Harbone, J. B. (1987). *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.

Herlyana, Riyanti, T., Rahman, I. R., & Kurnianto, E. (2024). Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Sabun Padat Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica fragrans* H.) pada Bakteri Propionibacterium acnes dan Jamur Candida albicans. JPOP - *Journal Pharmacy of Tanjungpura*, 1(2), 80-90.

Idrus, Syarifuddin, Marni Kaimudin, Risna F. Torry, and Reynaldo Biantoro. (2014). Isolasi Trimiristin Minyak Pala Banda serta pemanfaatannya sebagai bahan aktif Sabun the Isolation of Trimyristin From Banda Nutmeg Oil and Its Utilization As Active Ingredients of Soap. *Jurnal Riset Industri (Journal of Industrial Research)*, 8(1):23–31.

Jang, J., Valery, E. F. & Michael, J. S. (2022). *Probable role of C. acnes in the gut of the polychaete Capitella teleta*. Science of the Total Environment. https://www.sciencedirect.com/journal/science-of-the-total-environment.

Jawetz, M., & Adelberg. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran (Edisi 25)*. Jakarta: Salemba Medika.

Joen, S. T. N. (2020). Efektivitas ekstrak daun kayu putih (Melaleuca leucadendron L.) sebagai antibakteri secara in vitro. *Majority*, 9(2), 45–48.

Kuehnast, T., Fatih, C., Theresa, W., Andreas, P., Sanja, S., Alexander, S., Christian, R. & Stefan, S. (2018). Comparative analyses of biofilm formation among different C. acnes isolates. *International Journal of Medical Microbiology*, 308(8), 1027-1035.

Kumala. (2014). Mik*roba Endofit: Pemanfaatan Mikroba Endofit dalam Bidang Farmasi*. ISFI.

Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2013). *Robbins Basic Pathology*. Philadelphia, PA: Saunders.

Lestari, U., Syamsurizal, S., & Salsabila, S. (2023). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Masker Gel Peel-Off Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 20(1), 88-97. https://doi.org/10.31001/jfi.v20i1.1623

Michael, J., & Chan, E. C. S. (1988). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.

Nakatsuji, T., Tiffany, H. C., Anna, M., Butcher, dkk. (2018). A commensal strain of *Staphylococcus epidermidis* protects against skin neoplasia. *Science Advances*, 4(2).

Nasir, M., & Marwati, E. (2022). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daging Buah dan Daun Pala (*Myristica fragrans*). *Jurnal Sains dan Kesehatan, 4(Special Issue 1)*, 67-76. https://doi.org/10.25026/jsk.v4iSE-1.1691

Nur, F. A., Nurul, A. F. V., Fitri, S. A., & Nur, A. F. Y. (2020). Aktivitas antibakteri daun sirih: Uji ekstrak KHM (kadar hambat minimum) dan KBM (kadar bunuh minimum). *Sainstek*, 16(2). https://doi.org/10.30595/SAINTEKS.V16I2.7126

Pareta, D. N. (2022). Identifikasi Senyawa Metabolit sekunder Minyak Atsiri Biji Pala (*Meristica Fragrans Houtt*) menggunakan Metode GC-Ms. *Majalah INFO Sains, 3(2)*, 100-102.

Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2014). *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Jilid 2). Jakarta: UI Press.

Pratiwi, S. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit: Erlangga, Jakarta.

Purnomo, H., & Syamsul, E. S. (2017). *Statistika Farmasi (aplikasi praktis dengan SPSS)*. Indonesia: Grafka Indah.

Putri, V. A. D., Posangi, J., Nangoy, E., Bara, R. A. (2016). Uji Daya Hambat Jamur Endofit Rimpang Lengkuas (*Alpinia galnga* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-Biomedik* (eBm), 4(2).

Rahmawati, D. (2022). *Mikrobiologi Farmasi: Dasar-Dasar Mikrobiologi untuk Mahasiswa Farmasi*. Pustaka Baru Press.

Rastuti, U., Widyaningsih, S., Kartika, D., & Ningsih, D. R. (2011). Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Pala dari Banyumas Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Serta Identifikasi Senyawa Penyusunnya. *Molekul*, 6(1), 32-39.

Rastuti, U., Widyaningsih, S., Kartika, D., & Ningsih, D. R. (2013). Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Pala dari Banyumas Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Serta Identifikasi Senyawa Penyusunnya. *Molekul*, 8(2), 197–205.

Rini, C. S. & Rochmah, J. (2020). *Buku Ajar Mata Kuliah Bakteriologi Dasar.* Cetakan Pertama. Penerbit: UMSIDA Press, Jawa Timur.

Rismunandar. (1990). *Budidaya dan Tataniaga pala*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.

Ruhnayat, A, dan Martini. (2015). P*edoman Budi Daya Pala pada Kebun Campur*. Bogor, Indonesia: World Agroforestry Centre (ICRAF).

Rukmana, R. (2018). *Untung Selangit dari Agribisnis Pala*. Lily Publisher, Yogyakarta.

Safrida, S., Hasanuddin, H. & Nurul, A. A. (2019). Effect extract of Ipomoea pescaprae leaf as anti-inflammatory nonimmunological in rat Rattus norvegicus. *Aceh Journal of Animal Science*, 4(1), 11-17. https://jurnal.unsyiah.ac.id/AJAS.

Sari, A. N., & Asri, M. T. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus auratifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri Shigella dysenteriae. *LenteraBio*, 11(3), 441–448.

Sifatullah, N. & Zulkarnain. (2021). Jerawat (*Acne vulgaris*): review penyakit infeksi pada kulit. Prosiding Biologi Achieving the Sustainable *Development Goals*, 7(1), 19-23.

Stahl, E. (1985). *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: ITB.

Syahrurachman, A., Chatim, A., Soebandrio, A., Karuniawati, A., Santoso, A., & Harun, B. (1994). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran (Edisi Revisi)*. Jakarta: Bina Rupa Aksara.

Teramoto, K., Tatsuki, O., Yoshihiro, Y., Sadanori, S., Shinichi, I. & Koichi, T. (2019). Classification of *Cutibacterium acnes* at phylotype level by MALDI- MS proteotyping. Proceedings of The Japan Academy, Series B Physical and Biological Sciences, 95(10), 612-623.

Tumauhi, S. K., Yamlean, P. V., & Rundengan, G. (2023). Formulasi dan Uji Aktivitas Sediaan Masker Gel Peel-Off Ekstrak Etanol Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. *PHARMACON*, 12(2), 162-171.

Wahyuni, S. dan N. Bermawie. (2015). Deteksi Tanaman Pala Jantan dan Betina Secara Dini Berbasis Kearifan Lokal. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, Vol. 21(2): 28-3.

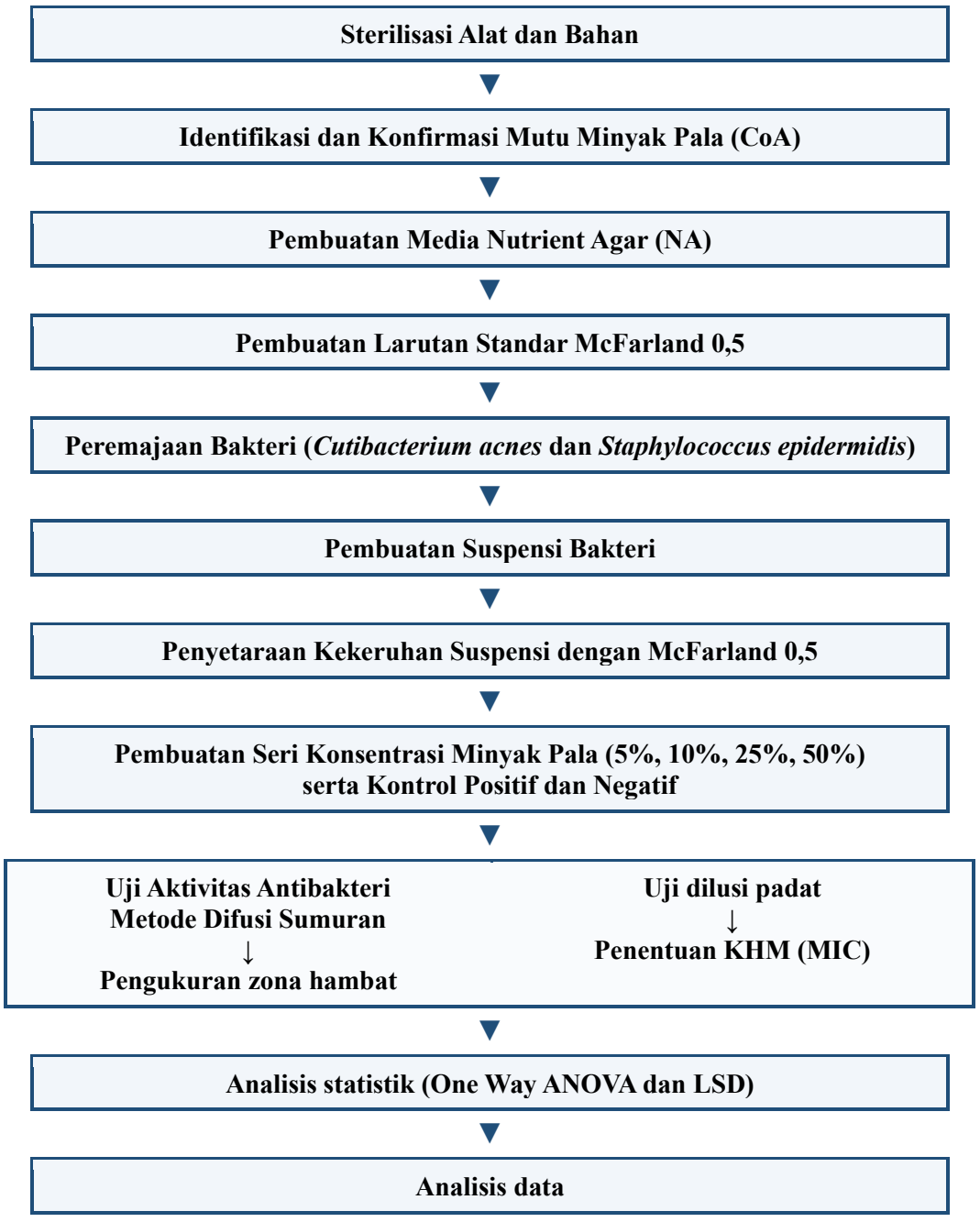
Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas* (2nd ed.). Berlin, Germany: Springer-Verlag.

Yanti, Y. N., Mitika, S., Farmasi, A., & Al-Fatah Bengkulu, Y. (2017). Uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata*).

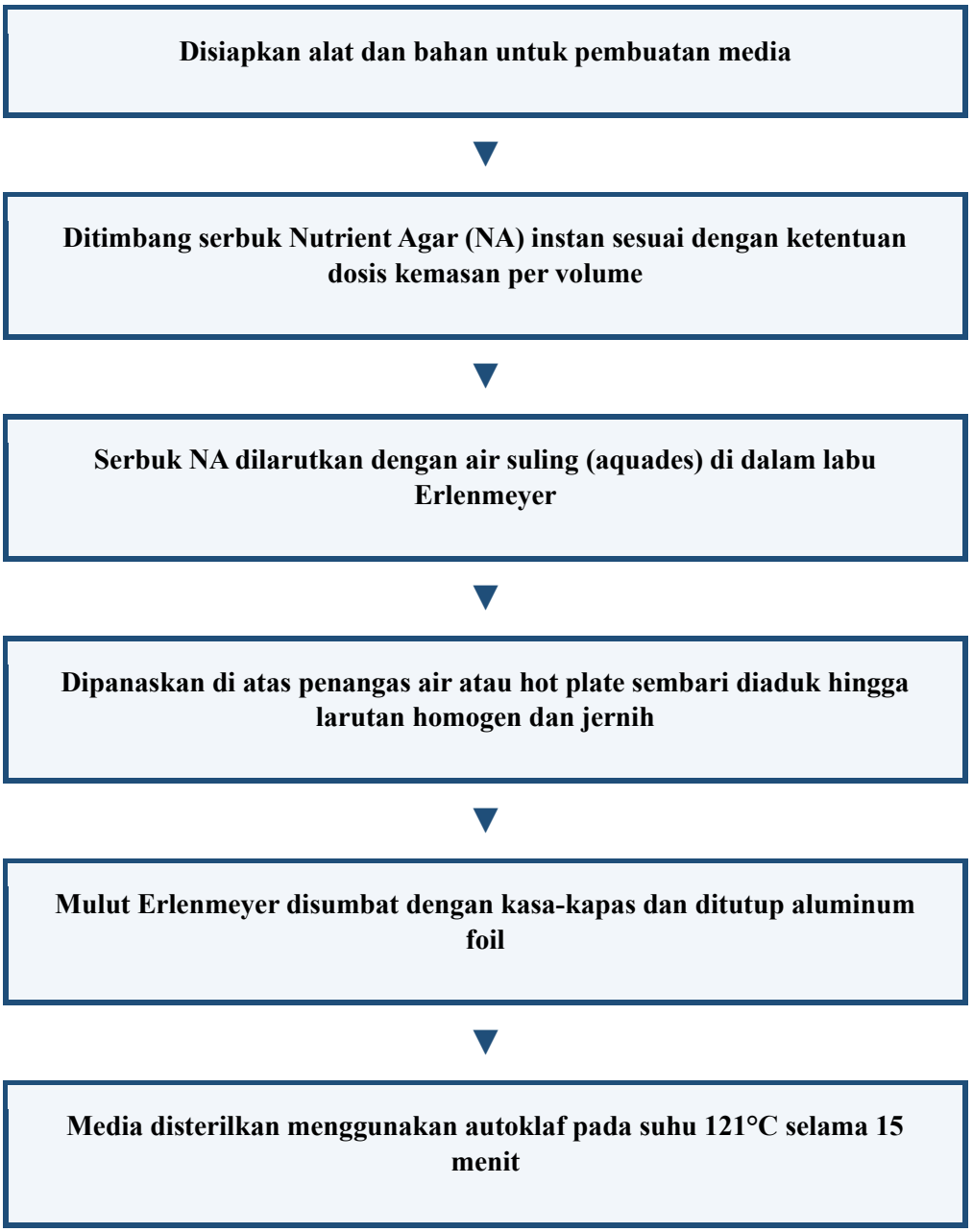
Yu, Y., Yingjie, S., Siyi, Z., Nan, W., Lan, L., Xinyi, Z., Xiejun, X., Weitao, C., Litai, J. & Zhongxin, Z. (2022). Suppression of C. acnes-mediated inflammatory reactions by fibroblast growth factor 21 in skin. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 17.https://www.mdpi.com/journal/ijms.

Yuliani, S., & Satuhu, S. (2012). *Panduan Lengkap Minyak Atsiri*. Penebar Swadaya. Jakarta.

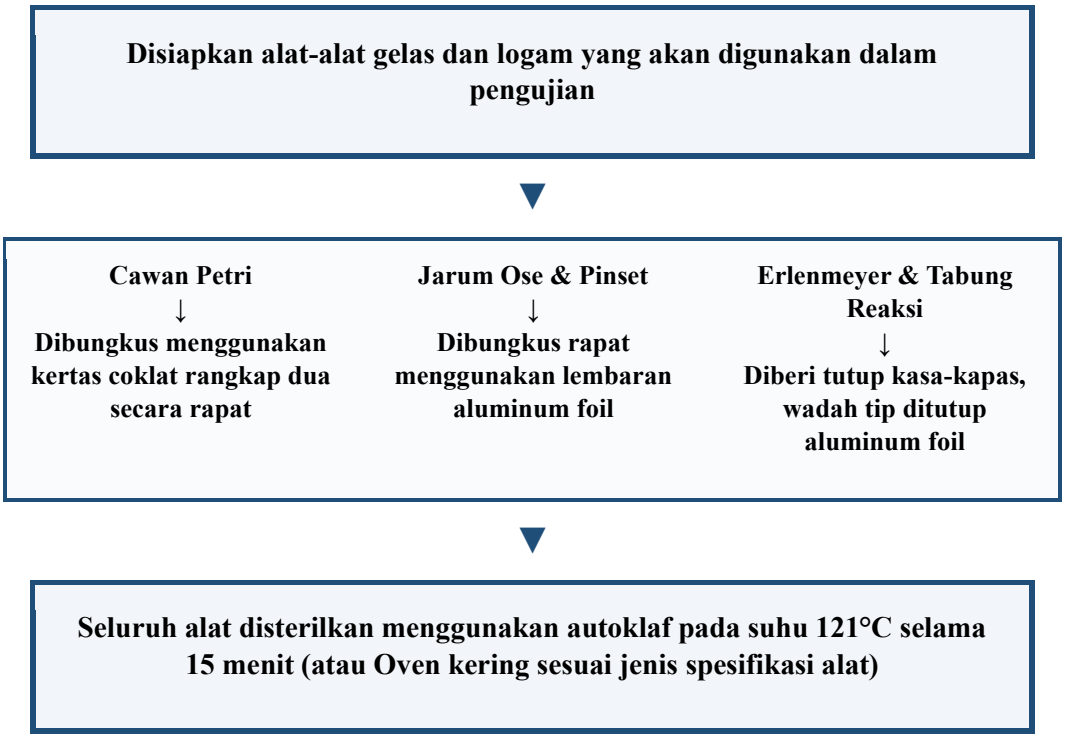
Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)



Lampiran 3. Proses Sterilisasi Alat



Lampiran 4. Pembuatan Larutan Standar McFarland 0,5

Disiapkan larutan H_2SO_4 1% dan $BaCl_2$ 1%

▼

Diambil $BaCl_2$ 1% sebanyak 0,05 mL menggunakan mikropipet

▼

Dimasukkan ke dalam tabung reaksi bersih

▼

Ditambahkan larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL secara perlahan-lahan

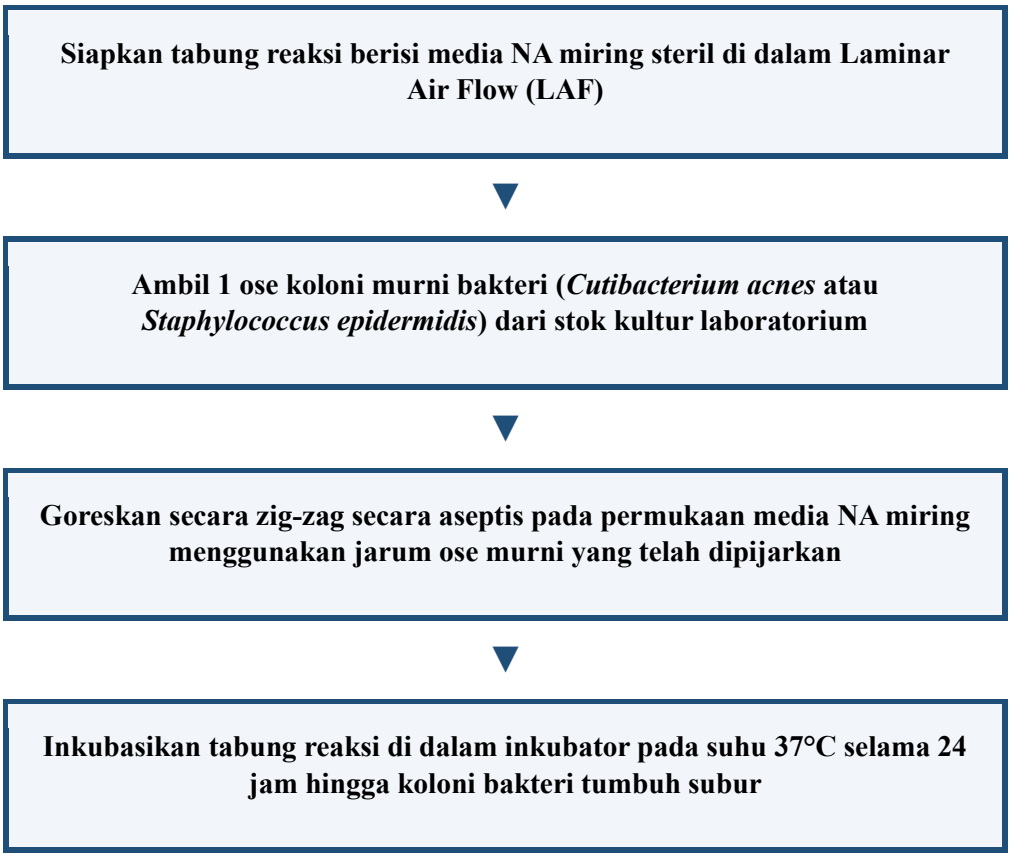
▼

Campuran digojok (vortex) hingga homogen dan terbentuk suspensi keruh

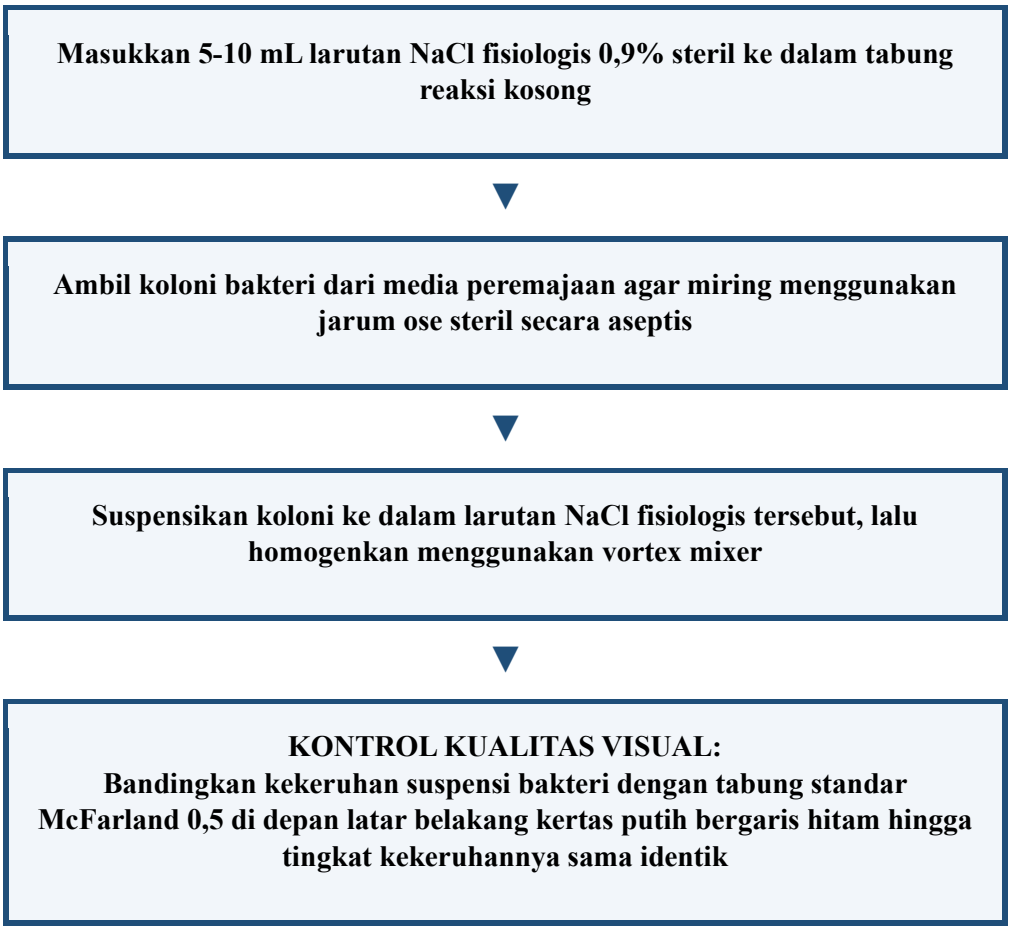
▼

Diberi label resmi: Larutan McFarland 0,5 (Disimpan pada botol tertutup)

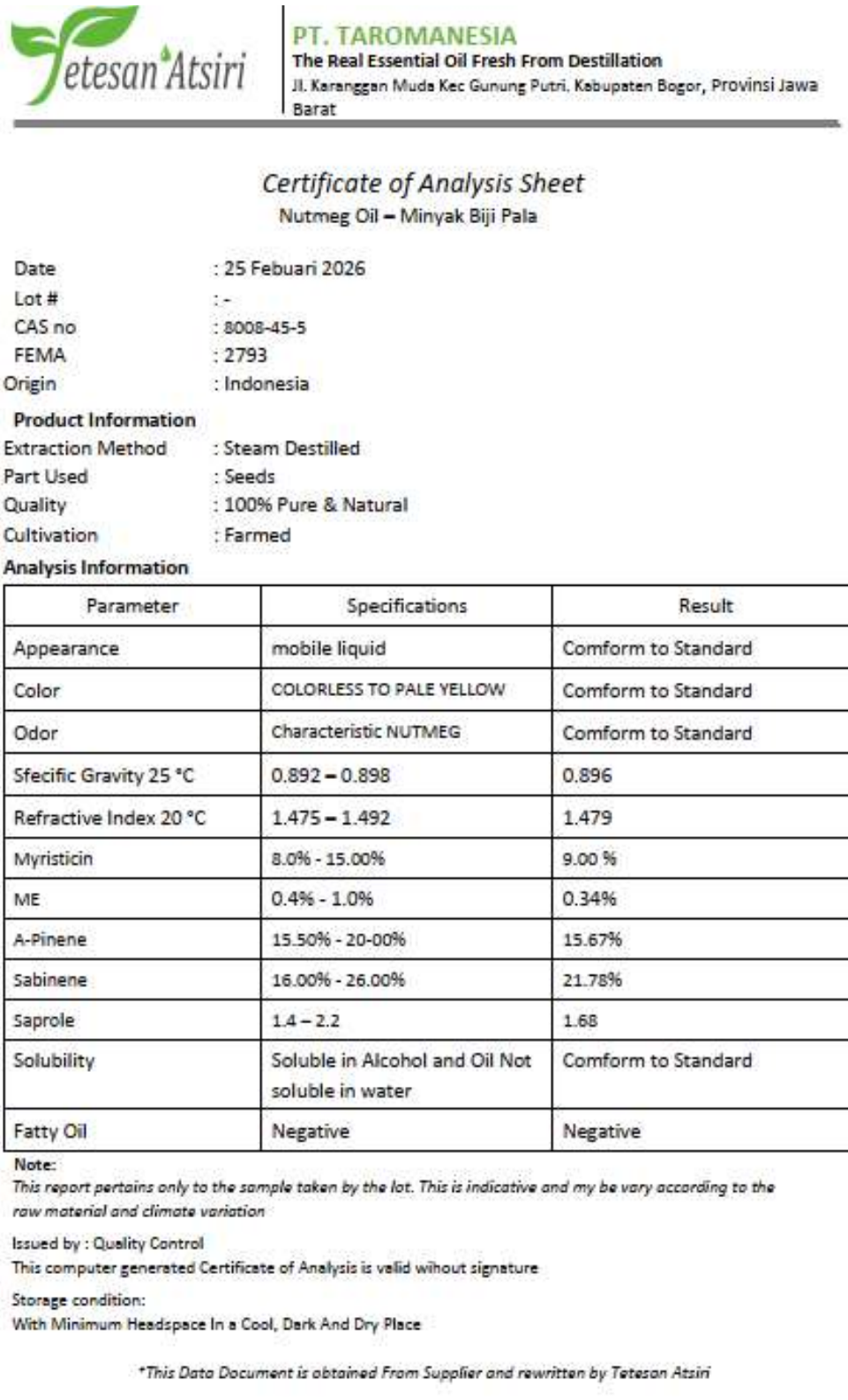
Lampiran 5. Bagan Alir Peremajaan Bakteri Uji



Lampiran 6. Pembuatan dan Kontrol Kualitas Suspensi Bakteri



Lampiran 7. Sertificat of analisis



Tetesan Atsiri

PT. TAROMANESIA
The Real Essential Oil Fresh From Destillation
Jl. Karanggan Muda Kec Gunung Putri. Kabupaten Bogor, Provinsi Jawa Barat

Certificate of Analysis Sheet
Nutmeg Oil – Minyak Biji Pala

Date : 25 Febuari 2026
Lot # : -
CAS no : 8008-45-5
FEMA : 2793
Origin : Indonesia

Product Information
Extraction Method : Steam Destilled
Part Used : Seeds
Quality : 100% Pure & Natural
Cultivation : Farmed

Analysis Information

Parameter	Specifications	Result
Appearance	mobile liquid	Comform to Standard
Color	COLORLESS TO PALE YELLOW	Comform to Standard
Odor	Characteristic NUTMEG	Comform to Standard
Sfecific Gravity 25 °C	0.892 – 0.898	0.896
Refractive Index 20 °C	1.475 – 1.492	1.479
Myristicin	8.0% - 15.00%	9.00 %
ME	0.4% - 1.0%	0.34%
A-Pinene	15.50% - 20-00%	15.67%
Sabinene	16.00% - 26.00%	21.78%
Saprole	1.4 – 2.2	1.68
Solubility	Soluble in Alcohol and Oil Not soluble in water	Comform to Standard
Fatty Oil	Negative	Negative

Note:
This report pertains only to the sample taken by the lot. This is indicative and my be vary according to the raw material and climate variation

Issued by : Quality Control
This computer generated Certificate of Analysis is valid wihout signature

Storage condition:
With Minimum Headspace In a Cool, Dark And Dry Place

**This Data Document is obtained From Supplier and rewritten by Tetesan Atsiri*

Figure 1

Lampiran 8

Pembuatan media NA



1. Serbuk NA ditimbang sebanyak 14 gram



2. Hasil dari penimbangan NA, kemudian ditambahkan aquadest





3. Disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Lampiran 9. Sterilisasi Alat

	
1. Alat- alat dibungkus terdahulu menggunakan aluminium foil sebelum masuk ke dalam	2. Semua alat yang sudah di bungkus dimasukan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

LAMPIRAN 10. PEREMAJAAN BAKTERI

<table>
<tr>
<td>
1. Sediakan bahan media NA dan tabung reaksi yang telah di sterilkan</td>
<td>
2. Media miring yang sudah siap menjadi tempat biakan bakteri</td>
</tr>
<tr>
<td>
3. Kultur bakteri diambil dengan jarum ose dan digoreskan ke dalam tabung yang berisi media NA dan dibiarkan selama 24 jam</td>
<td>
4. Hasil peremajaan bakteri s. Epidermidis dan c. acnes</td>
</tr>
</table>

Lampiran: 11. Perhitungan Natrium Agar (NA)

Perhitungan untuk pembuatan media Natrium Agar (NA) sesuai dengan komposisi yang digunakan.

Kelarutan NA = 14 gram dalam 500 mL

Yang dibuat = 500 mL

Persamaan perbandingan:

14 g = 500 mL

X g = 500 mL

Menggunakan rumus perbandingan:

V1 x M1 = V2 x M2

500 mL x X = 500 mL x 14 g

X = (500 mL x 14 g) / 500 mL

X = 14 g

Prosedur Pengerjaan:

1. Menimbang serbuk NA sebanyak 14 gram menggunakan neraca analitik.
2. Memasukkan serbuk NA ke dalam erlenmeyer.
3. Menambahkan akuades hingga mencapai volume total 500 mL.
4. Memanaskan dan mengaduk campuran di atas hotplate hingga serbuk larut sempurna dan media menjadi jernih.

Lampiran 12. Pembuatan suspensi bakteri

<table>
<tr>
<td>
1. Tabung reaksi disiapkan yang berisi NaCl 0,9%</td>
<td>
2. Kultur bakteri kemudian diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9%</td>
</tr>
<tr>
<td>
3. Kultur bakteri yang sudah dimasukkan ke dalam tabung reaksi di vortex hingga homogen</td>
<td>
4. Lalu bandingkan tingkat kekeruhan antara suspensi bakteri dengan McFarland 0,5 = 1,5 x 10^8 CFU/mL</td>
</tr>
</table>

Lampiran 13. Pembuatan Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif

<table>
<tr>
<td>
1. Klindamisin ditimbang 0,1 gr</td>
<td>
2. DMSI 1% diambil dengan beaker gelas</td>
</tr>
<tr>
<td>
3. DMSO 1% dipipet,</td>
<td>
4. lalu tambahkan aquadest</td>
</tr>
<tr>
<td>
Hasil kontrol negatif</td>
<td>
Hasil kontrol positf</td>
</tr>
</table>

Lampiran 14. Perhitungan kontrol positif

Membuat larutan kontrol positif klindamisin dengan konsentrasi 1% (b/v) sebanyak 10 mL.

Massa (g) = (Konsentrasi % × Volume Akhir mL) / 100

1. Perhitungan

   Konsentrasi yang diinginkan: 1%

   Volume akhir larutan: 10 mL

   Maka:

   Massa = (1 × 10 mL) / 100

   Massa = 0,1 gram

   Massa = 100 mg

1. Prosedur penelitian:
   a. Menimbang serbuk klindamisin murni sebanyak 0,1 gram (100 mg) menggunakan neraca analitik.
   b. Memindahkan serbuk ke dalam tabung reaksi
   c. Melarutkan serbuk dengan menambahkan pelarut DMSO secara bertahap.
   d. Memvortex campuran hingga serbuk larut sempurna dan homogen.
   e. Menambahkan DMSO hingga mencapai batas volume akhir 10 mL.

Lampiran 15. Alur pembuatan konsentrasi



1. masing- masing minyak pala di pipet sesuai jumlah kebutuhan konsentrasi, menggunakan mikropipet



2. ditambahkan dengan DMSO 1%



3. hasil konsentrasi minyak pala yang sudah dilarutkan dengan DMSO 1%

Lampiran: 16. Perhitungan Seri Konsentrasi Minyak Pala

Perhitungan rinci untuk pembuatan seri konsentrasi minyak pala dengan pelarut DMSO 1%, menggunakan mikropipet dengan volume akhir 1.000 µL (1 mL) per tabung eppendorf.

Konsentrasi (%)	Minyak Pala (µL)	DMSO 1% (µL)	Volume Akhir µL / (1 mL)
5%	50 µL	950 µL	1.000 µL/ (1 mL)
10%	100 µL	900 µL	1.000 µL/ (1 mL)
25%	250 µL	750 µL	1.000 µL/ (1 mL)
50%	500 µL	500 µL	1.000 µL/ (1 mL)

1. Konsentrasi 5%

   Perhitungan: (5 / 100) × 1.000 µL = 50 µL

   Hasil: Diperlukan 50 µL minyak pala dan ditambahkan 950 µL DMSO 1% hingga volume total 1.000 µL / (1 mL).

2. Konsentrasi 10%
   Perhitungan: (10 / 100) × 1.000 µL = 100 µL
   Hasil: Diperlukan 100 µL minyak pala dan ditambahkan 900 µL DMSO 1% hingga volume total 1.000 µL / (1 mL).

3. Konsentrasi 25%
   Perhitungan: (25 / 100) × 1.000 µL = 250 µL
   Hasil: Diperlukan 250 µL minyak pala dan ditambahkan 750 µL DMSO 1% hingga volume total 1.000 µL / (1 mL).

4. Konsentrasi 50%
   Perhitungan: (50 / 100) × 1.000 µL = 500 µL
   Hasil: Diperlukan 500 µL minyak pala dan ditambahkan 500 µL DMSO 1% hingga volume total 1.000 µL/ (1 mL).

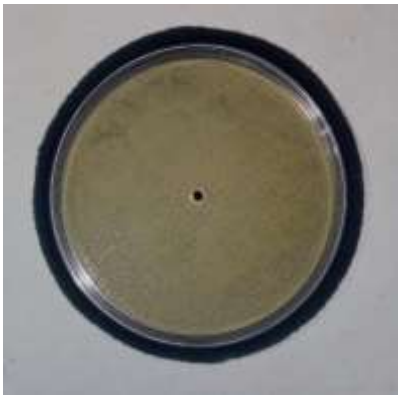
Lampiran : 17. Uji aktivitas antibakteri

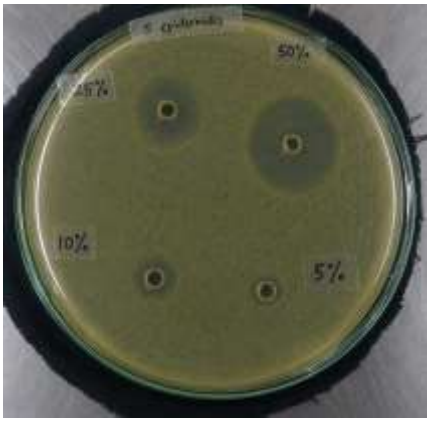
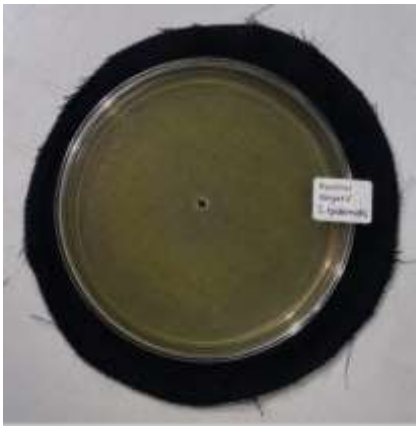
No	Gambar	Keterangan
1.		Timbang Serbuk NA sebanyak 14 mg
2.		Pembuatan media NA
		Penuangan media NA kedalam cawan petri

4.		Media di diamkan hingga memadat dan mengeras
5.		Bakteri di swabkan ke permukaan media NA yang telah mengeras
6.		Media NA dilubangi dan diberikan seri konsentrasi.
7.		Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

LAMPIRAN 19

Hasil uji aktivitas antibakteri bakteri *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* metode sumuran

NO	GAMBAR HASIL UJI	KETERANGAN
1.		Hasil uji aktivitas antibakteri minyak daun cengkeh terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* menggunakan metode difusi sumuran. Satu cawan petri memuat konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50% sebagai perwakilan hasil penelitian.
2.		Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol positif (Klindamisin 1%) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes.*
3.		Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol negatif (DMSO 1%) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*

4.		Hasil uji aktivitas antibakteri minyak pala terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode difusi sumuran. Satu cawan petri memuat konsentrasi 5%, 10%, 25%, dan 50% sebagai perwakilan hasil penelitian.
5.		Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol positif (Klindamisin 1%) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.
6.		Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol negatif (DMSO 1%) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Lampiran 20. Perhitungan Zona Hambat

A. Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

1. Konsentrasi 5%

R1 (A) = (6,30 mm + 6,30 mm) / 2 - 6 mm = 0,30 mm

R2 (B) = (6,15 mm + 6,15 mm) / 2 - 6 mm = 0,15 mm

R3 (C) = (6,20 mm + 6,20 mm) / 2 - 6 mm = 0,20 mm

Rata-rata = (0,30 mm + 0,15 mm + 0,20 mm) / 3 = 0,22 mm

2. Konsentrasi 10%

R1 (A) = (8,05 mm + 8,05 mm) / 2 - 6 mm = 2,05 mm

R2 (B) = (8,10 mm + 8,10 mm) / 2 - 6 mm = 2,10 mm

R3 (C) = (8,15 mm + 8,15 mm) / 2 - 6 mm = 2,15 mm

Rata-rata = (2,05 mm + 2,10 mm + 2,15 mm) / 3 = 2,10 mm

3. Konsentrasi 25%

R1 (A) = (14,70 mm + 14,70 mm) / 2 - 6 mm = 8,70 mm

R2 (B) = (14,55 mm + 14,55 mm) / 2 - 6 mm = 8,55 mm

R3 (C) = (14,70 mm + 14,70 mm) / 2 - 6 mm = 8,70 mm

Rata-rata = (8,70 mm + 8,55 mm + 8,70 mm) / 3 = 8,65 mm

4. Konsentrasi 50%

R1 (A) = (18,35 mm + 18,35 mm) / 2 - 6 mm = 12,35 mm

R2 (B) = (18,05 mm + 18,05 mm) / 2 - 6 mm = 12,05 mm

R3 (C) = (18,25 mm + 18,25 mm) / 2 - 6 mm = 12,25 mm

Rata-rata = (12,35 mm + 12,05 mm + 12,25 mm) / 3 = 12,22 mm

5. Kontrol Positif (Klindamisin 0,1%)

R1 (A) = (30,10 mm + 30,10 mm) / 2 - 6 mm = 24,10 mm

R2 (B) = (29,80 mm + 29,80 mm) / 2 - 6 mm = 23,80 mm

R3 (C) = (29,90 mm + 29,90 mm) / 2 - 6 mm = 23,90 mm

Rata-rata = (24,10 mm + 23,80 mm + 23,90 mm) / 3 = 23,93 mm

B. Bakteri *Propionibacterium acnes*

1. Konsentrasi 5%

R1 (A) = (8,00 mm + 8,00 mm) / 2 - 6 mm = 2,00 mm

R2 (B) = (8,00 mm + 8,00 mm) / 2 - 6 mm = 2,00 mm

R3 (C) = (8,00 mm + 8,00 mm) / 2 - 6 mm = 2,00 mm

Rata-rata = (2,00 mm + 2,00 mm + 2,00 mm) / 3 = 2,00 mm

2. Konsentrasi 10%

R1 (A) = (10,35 mm + 10,35 mm) / 2 - 6 mm = 4,35 mm

R2 (B) = (10,30 mm + 10,30 mm) / 2 - 6 mm = 4,30 mm

R3 (C) = (10,30 mm + 10,30 mm) / 2 - 6 mm = 4,30 mm

Rata-rata = (4,35 mm + 4,30 mm + 4,30 mm) / 3 = 4,32 mm

3. Konsentrasi 25%

R1 (A) = (16,05 mm + 16,05 mm) / 2 - 6 mm = 10,05 mm

R2 (B) = (16,25 mm + 16,25 mm) / 2 - 6 mm = 10,25 mm

R3 (C) = (16,30 mm + 16,30 mm) / 2 - 6 mm = 10,30 mm

Rata-rata = (10,05 mm + 10,25 mm + 10,30 mm) / 3 = 10,20 mm

4. Konsentrasi 50%

R1 (A) = (19,60 mm + 19,60 mm) / 2 - 6 mm = 13,60 mm

R2 (B) = (19,25 mm + 19,25 mm) / 2 - 6 mm = 13,25 mm

R3 (C) = (18,80 mm + 18,80 mm) / 2 - 6 mm = 12,80 mm

Rata-rata = (13,60 mm + 13,25 mm + 12,80 mm) / 3 = 13,22 mm

5. Kontrol Positif (Klindamisin 0,1%)

   R1 (A) = (34,35 mm + 34,35 mm) / 2 - 6 mm = 28,35 mm

   R2 (B) = (36,20 mm + 36,20 mm) / 2 - 6 mm = 30,20 mm

   R3 (C) = (37,20 mm + 37,20 mm) / 2 - 6 mm = 31,20 mm

   Rata-rata = (28,35 mm + 30,20 mm + 31,20 mm) / 3 = 29,92 mm

Lampiran 21. Analisis Data

A. Bakteri *Cutibacterium Acnes*

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Konsentrasiii		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ZonaHambat2	5	.	3	.	.	3	.
	10	.385	3	.	.750	3	<,001
	25	.314	3	.	.893	3	.363
	50	.200	3	.	.995	3	.862

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.[a]
ZonaHambat2	Based on Mean	3.997	3	8	.052
	Based on Median	2.650	3	8	.120
	Based on Median and with adjusted df	2.650	3	2.816	.231
	Based on trimmed mean	3.915	3	8	.054

a. Confidence Interval: 0%

3. Uji one way anova

ANOVA

ZonaHambat2

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.[a]
Between Groups	241.008	3	80.336	1793.550	<,001
Within Groups	.358	8	.045		
Total	241.367	11			

a. Confidence Interval: 95%

4. Uji *post hot test*

Multiple Comparisons

Dependent Variable:ZonaHambat2

LSD

(I) Konsentrasiii	(J) Kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5	Kontrol Positif	-27.91667*	.50222	<,001	-29.0109	-26.8224
	Kontrol negatif	2.00000*	.50222	.002	.9058	3.0942
	10	-2.31667*	.50222	<,001	-3.4109	-1.2224
	25	-8.20000*	.50222	<,001	-9.2942	-7.1058
	50	-11.21667*	.50222	<,001	-12.3109	-10.1224
10	Kontrol Positif	-25.60000*	.50222	<,001	-26.6942	-24.5058
	Kontrol Negatif	4.31667*	.50222	<,001	3.2224	5.4109
	5	2.31667*	.50222	<,001	1.2224	3.4109
	25	-5.88333*	.50222	<,001	-6.9776	-4.7891
	50	-8.90000*	.50222	<,001	-9.9942	-7.8058
25	Kontrol Positif	-19.71667*	.50222	<,001	-20.8109	-18.6224
	Kontrol Negatif	10.20000*	.50222	<,001	9.1058	11.2942
	5	8.20000*	.50222	<,001	7.1058	9.2942
	10	5.88333*	.50222	<,001	4.7891	6.9776
	50	-3.01667*	.50222	<,001	-4.1109	-1.9224
50	Kontrol Positif	-16.70000*	.50222	<,001	-17.7942	-15.6058
	Kontrol Negatif	13.21667*	.50222	<,001	12.1224	14.3109
	5	11.21667*	.50222	<,001	10.1224	12.3109
	10	8.90000*	.50222	<,001	7.8058	9.9942
	25	3.01667*	.50222	<,001	1.9224	4.1109

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

B. Bakteri *staphylococcus epidermidis*

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Konsentrasiii		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ZonaHambat3	5	.253	3	.	.964	3	.637
	10	.175	3	.	1.000	3	1.000
	25	.385	3	.	.750	3	<,001
	50	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.[a]
ZonaHambat3	Based on Mean	1.671	3	8	.250
	Based on Median	.480	3	8	.705
	Based on Median and with adjusted df	.480	3	5.319	.709
	Based on trimmed mean	1.553	3	8	.275

a. Confidence Interval: 0%

3. Uji One Way Anova

ANOVA

ZonaHambat3

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.[a]
Between Groups	282.479	3	94.160	9616.305	<,001
Within Groups	.078	8	.010		
Total	282.557	11			

a. Confidence Interval: 95%

4. Uji *post hot test*

Multiple Comparisons

Dependent Variable:ZonaHambat3

LSD

(I) Konsentrasiii	(J) Konsentrasiii	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5	1	-23.71667*	.08333	<,001	-23.8982	-23.5351
	2	.21667*	.08333	.023	.0351	.3982
	10	-1.88333*	.08333	<,001	-2.0649	-1.7018
	25	-8.43333*	.08333	<,001	-8.6149	-8.2518
	50	-12.00000*	.08333	<,001	-12.1816	-11.8184
10	1	-21.83333*	.08333	<,001	-22.0149	-21.6518
	2	2.10000*	.08333	<,001	1.9184	2.2816
	5	1.88333*	.08333	<,001	1.7018	2.0649
	25	-6.55000*	.08333	<,001	-6.7316	-6.3684
	50	-10.11667*	.08333	<,001	-10.2982	-9.9351
25	1	-15.28333*	.08333	<,001	-15.4649	-15.1018
	2	8.65000*	.08333	<,001	8.4684	8.8316
	5	8.43333*	.08333	<,001	8.2518	8.6149
	10	6.55000*	.08333	<,001	6.3684	6.7316
	50	-3.56667*	.08333	<,001	-3.7482	-3.3851
50	1	-11.71667*	.08333	<,001	-11.8982	-11.5351
	2	12.21667*	.08333	<,001	12.0351	12.3982
	5	12.00000*	.08333	<,001	11.8184	12.1816
	10	10.11667*	.08333	<,001	9.9351	10.2982
	25	3.56667*	.08333	<,001	3.3851	3.7482

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.