

ORIGINAL ARTICLE

Pengaruh ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Fiadwita Nia Ifriana¹ Widyasari Kumala²

ABSTRAK

LATAR BELAKANG

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri negatif-gram yang menjadi penyebab tersering infeksi di lingkungan Rumah Sakit yang dikenal dengan istilah infeksi nosokomial. Saat ini penggunaan antibakteri dari bahan alami mulai dikembangkan. Di seluruh dunia, ratusan tanaman dapat digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai pengobatan untuk infeksi bakteri. Biji buah pala (*Myristica fragrans Houtt*) mengandung minyak atsiri, saponin, terpenoid, flavonoid, yang diketahui berpotensi sebagai antibakteri. Maka dari itu penulis ingin mengetahui aktivitas antibakteri pada biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE

Desain penelitian ini adalah eksperimental sesungguhnya (*True Experimental*) laboratorium in vitro, menggunakan metode difusi cakram, dengan menggunakan sampel ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Terdapat 4 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol. Zona hambat yang terbentuk akan diukur menggunakan penggaris. Analisis data dengan menggunakan SPSS versi 22.

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat pada kertas cakram. Zona hambat yang terbentuk bervariasi, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin luas zona hambat yang terbentuk.

KESIMPULAN

Ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan kategori lemah.

Kata kunci : *Pseudomonas aeruginosa*, ekstrak biji pala, difusi cakram

¹ Program Studi Kedokteran,
Fakultas Kedokteran,
Universitas Trisakti

² Departemen Mikrobiologi,
Fakultas Kedokteran,
Universitas Trisakti

Korespondensi:

Widyasari Kumala
Departemen Mikrobiologi,
Fakultas Kedokteran,
Universitas Trisakti
Email: mecowid@trisakti.ac.id;
mecowid@yahoo.com

J Biomedika Kesehat 2018;1(3):172-178
DOI: 10.18051/JBiomedKes.2018.v1.172-178

pISSN: 2621-539X / eISSN: 2621-5470

Artikel akses terbuka (*open access*) ini didistribusikan di bawah lisensi Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

ABSTRACT

Effect of nutmeg (*Myristica fragrans Houtt*) extract as antibacterial substance on the growth of *Pseudomonas aeruginosa***BACKGROUND**

Pseudomonas aeruginosa is a gram-negative bacterium that is the most common cause of infection in the hospital or known as nosocomial infection. Currently the use of antibacterials from natural ingredients began to be developed. Around the world, hundreds of plants can be used in traditional medicine as a treatment for bacterial infections. The nutmeg seed (*Myristica fragrans Houtt*) contains essential oils, saponins, terpenoids, flavonoids, which are known to be potent as antibacterials. Therefore, the authors wanted to know the antibacterial activity in nutmeg seed (*Myristica fragrans Houtt*) on the growth of bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.

METHODS

The design of this study is a real experimental (*True Experimental*) laboratory study in vitro, using the disc diffusion method. The sample used is the extract of nutmeg seed (*Myristica fragrans Houtt*) and bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. Divided into four groups of treatment and two control group. The inhibit zone formed will be measured using a ruler. Data analysis using SPSS version 22.

RESULT

In this study obtained the results of nutmeg extract (*Myristica fragrans Houtt*) can inhibit the growth of bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, this is evidenced by the formation of resistor zones on paper discs. Zone inhibition that formed varies, the higher the concentration of extracts the more the zone of inhibition is formed.

CONCLUSION

The extract of nutmeg seed (*Myristica fragrans Houtt*) can inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* with the weak category.

Keywords : *Myristica fragrans Houtt*, *Pseudomonas aeruginosa*, nutmeg seed extract, disc diffusion

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi adalah penyebab kematian terbanyak di seluruh dunia.⁽¹⁾ Di Negara berkembang, termasuk Indonesia, penyakit infeksi masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat. Tingginya angka kejadian penyakit infeksi di Indonesia menyebabkan terjadinya peningkatan yang berkaitan dengan pengobatannya.⁽²⁾ Salah satu penyebab infeksi yang paling sering dijumpai adalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri, sehingga pemberian antibiotik atau antibakteri masih merupakan pilihan utama untuk mengatasi penyakit infeksi saat ini. Berbagai studi menemukan bahwa sekitar 40–62% antibiotik digunakan secara tidak tepat antara lain untuk penyakit-penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik.⁽³⁾ Penggunaan antibiotik yang berulang pada beberapa strain bakteri tertentu dapat menyebabkan terjadinya resistensi, karena pada bakteri terjadi mekanisme pertahanan diri agar tetap survive di alam.⁽⁴⁾ Munculnya resistensi terhadap berbagai antibiotik dipengaruhi oleh pemakaian antibiotik itu sendiri. Semakin lama seorang pasien mendapat terapi antibiotik, maka akan memudahkan timbulnya kolonisasi oleh mikroba yang resisten antibiotik.^(5,6) Bila antibiotik diberikan berlebihan, tidak adekuat,

monoton (satu jenis terus menerus) maka akan mengurangi efektifitasnya sehingga menimbulkan resistensi terutama bakteri negatif-gram.^(7,8)

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Nurmala dkk, dikatakan bahwa bakteri negatif-gram lebih banyak mengalami resistensi antibiotik dari pada bakteri positif-gram. Salah satu bakteri negatif-gram yang telah mengalami resistensi antibiotik adalah *Pseudomonas aeruginosa*.⁽⁹⁾ *Pseudomonas aeruginosa* adalah kuman patogen oportunistik yang dapat menyebabkan keadaan yang invasif pada pasien dengan penyakit kritis maupun pasien yang memiliki tingkat imunitas yang sangat rendah. Umumnya kuman ini sering ditemukan sebagai penyebab infeksi nosokomial di rumah sakit khususnya di Intensive Care Unit (ICU).⁽¹⁰⁾

Infeksi nosokomial banyak terjadi di seluruh dunia dengan kejadian terbanyak di Negara yang sedang berkembang karena penyakit-penyakit infeksi masih menjadi penyebab utamanya. Suatu penelitian yang dilakukan oleh WHO tahun 2006 menunjukkan bahwa sekitar 8,7% dari 55 rumah sakit dari 14 negara di Eropa, Timur tengah, dan Asia Tenggara serta Pasifik terdapat infeksi nosokomial, khususnya di Asia Tenggara sebanyak 10%. Di Indonesia yaitu di 10

RSU pendidikan, prevalensi infeksi nosokomial cukup tinggi yaitu 6-16% dengan rata-rata 9,8% pada tahun 2010.⁽¹¹⁾

Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya.⁽¹²⁾ Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat modern.⁽¹³⁾ Biji buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) mengandung minyak atsiri, saponin, terpenoid, flavonoid, yang diketahui berpotensi sebagai antibakteri.⁽¹⁴⁾

Saat ini penggunaan antibakteri dari bahan alami mulai dikembangkan. Di seluruh dunia, ratusan tanaman dapat digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai pengobatan untuk infeksi bakteri. Tingginya tingkat resistensi bakteri terutama negatif-gram membuat banyak peneliti berusaha mencari cara untuk mengatasi masalah infeksi bakteri. Dari penjelasan di atas, penulis ingin mengetahui serta menilai apakah ada daya hambat dari ekstrak biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

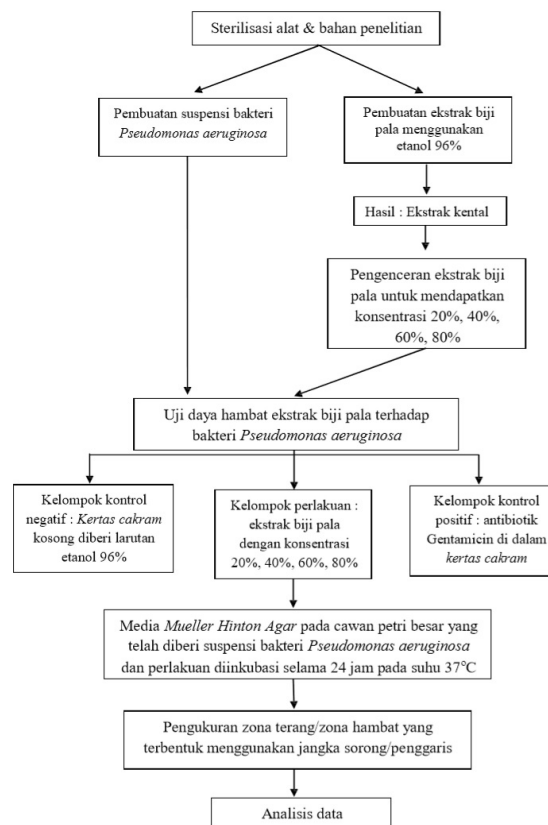
METODE

Desain penelitian ini ialah penelitian eksperimental sesungguhnya (*True Experimental*) laboratorium menggunakan metode difusi cakram dengan melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Dalam penelitian ini terdapat kelompok kontrol yang terbagi menjadi dua yaitu kontrol positif yaitu antibiotik Gentamicin dan kontrol negatif yaitu etanol 96%. Sedangkan kelompok perlakuan akan diberikan perlakuan berupa berbagai konsentrasi (20%, 40%, 60% dan 80%) dari ekstrak biji pala (*Myristica fragrans* Houtt).

Populasi yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang diperoleh dari isolat bakteri milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas

Trisakti. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak biji buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) Bogor, Indonesia.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain Isolat murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Ekstrak kental biji pala (*Myristica fragrans* Houtt), Etanol 96%, *Mueller Hinton Agar*, Larutan McFarland 0,5, kertas cakram, Media BHI, antibiotik Gentamicin.



Gambar 1. Alur penelitian

Analisis data menggunakan metode data statistik *One Way ANOVA* (*Analysis of Variance*) kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Multiple Comparisons* dengan metode *Least Significance Difference* (LSD). Jika pada data yang diuji ternyata tidak terdistribusi normal atau variannya tidak homogen maka analisis data menggunakan metode *Kruskal-Wallis* kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Multiple Comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*.

HASIL

Setelah bakteri diberi perlakuan dan diinkubasi selama 24 jam, selanjutnya dilakukan

Tabel 1. Hasil pengukuran uji daya hambat ekstrak biji pala terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi ekstrak biji pala dan kontrol	Diameter zona hambat (mm)						Rata-rata	Morales	
	Uji I	Uji II	Uji III	Uji IV	UJI V	UJI VI		Diameter zona terang (mm)	Zona hambat
Etanol (kontrol negatif)	0	0	0	0	0	0	0	0	Tidak ada
Konsentrasi 20%	2	2	1	2	1	1	1,5	< 5 mm	Lemah
Konsentrasi 40%	3	3	2	2	2	2	2,3	< 5 mm	Lemah
Konsentrasi 60%	3	3	4	3	4	4	3,5	< 5 mm	Lemah
Konsentrasi 80%	5	4	5	6	4	5	4,83	< 5 mm	Lemah
Antibiotik Gentamicin (kontrol positif)	19	18	18	19	19	18	18,5	11-20 mm	Kuat

pengukuran zona hambat di sekitar kertas cakram menggunakan penggaris atau jangka sorong. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak biji pala yang diperoleh dari proses maserasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan klasifikasi morales, zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi tergolong lemah.⁽¹⁵⁾ Besarnya zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak, di mana semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Kadar Hambat Minimum (KHM) yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara kualitatif adalah pada konsentrasi 20%.

Data yang telah didapatkan terlebih dahulu diuji normalitas datanya. Uji normalitas dilakukan untuk menguji apakah data berdistribusi normal atau tidak, uji normalitas dilakukan dengan metode *Kolmogrov-smirnov*.

Tabel 2. Uji normalitas

Varians zona hambat bakteri	Signifikansi
Konsentrasi Ekstrak biji Pala	0,200

Dari hasil uji normalitas didapatkan nilai *Asymp.Sig* ialah 0,200 di mana nilai tersebut >0,05. Sehingga dapat disimpulkan bahwa data dalam penelitian ini berdistribusi normal. Setelah itu dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui apakah varian dari perlakuan homogen atau tidak homogen dengan menggunakan uji *Lavene*. Berdasarkan uji *Lavene* didapatkan nilai *p* sebesar 0,000, karena nilai *p* <0,05 maka dapat dikatakan bahwa data tidak homogen. Salah

satu syarat dilakukannya uji *one way ANOVA* adalah uji homogenitas >0,05, sehingga syarat uji *ANOVA* tidak terpenuhi. Maka data dapat diuji menggunakan uji non parametric *Kruskal-Wallis*.

Tabel 3. Uji *Kruskal-Wallis*

Varians zona hambat bakteri	Signifikansi
Konsentrasi Ekstrak biji Pala	0,200

Pada hasil uji *Kruskal-Wallis*, didapatkan nilai *significancy* sebesar 0,000. Dimana hasil uji *Kruskal-Wallis* tersebut menunjukkan nilai *significancy* <0,05 maka dapat dikatakan bahwa sampel tersebut memiliki perbedaan varians data yang bermakna. Uji selanjutnya adalah uji *Post hocMann-whitney*. Uji *post hoc* dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna antara dua perlakuan dalam terbentuknya zona hambat. Dari hasil uji diketahui bahwa setiap konsentrasi (20%, 40%, 60%, 80%) yang digunakan pada penelitian ini memiliki perbedaan bermakna terhadap kontrol positif yaitu antibiotik *Gentamicin* dengan nilai *significancy* <0,05 dan terdapat juga perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif dengan nilai *significancy* <0,05.

PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel hasil penelitian uji daya hambat ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode difusi cakram, dengan konsentrasi ekstrak biji pala yaitu 20%, 40%, 60% dan 80%, dengan masa inkubasi 24 jam didapatkan bahwa ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.

Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat keruh di sekitar kertas cakram. Akan tetapi berdasarkan klasifikasi Morales, kemampuan daya hambat ekstrak biji pala terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tergolong lemah. Penggunaan etanol sebagai kontrol negatif tidak memperlihatkan adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Hal ini menunjukkan bahwa etanol sebagai pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak biji pala tidak mempunyai pengaruh antibakteri. Pada kontrol positif yaitu antibiotik Gentamicin yang masih efektif menghambat pertumbuhan bakteri terutama bakteri negatif-gram, salah satunya adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, tampak terlihat adanya zona hambat yang cukup luas di sekitar kertas cakram antibiotik Gentamicin.

Zona hambat sudah mulai terlihat pada ekstrak biji pala dengan konsentrasi 20%, dari hasil juga dapat dilihat bahwa semakin bertambahnya konsentrasi maka semakin luas juga zona hambat yang terbentuk, menurut Harvey.⁽¹⁶⁾ semakin tinggi zat antibakteri maka memungkinkan semakin banyak pula sel mikroorganisme yang perkembangbiakannya terhambat. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Praisia dkk.⁽¹⁷⁾ yang menggunakan ekstrak biji pala dengan metode sumuran dan konsentrasi 12,5%, 25%, 50% dan 100% didapatkan bahwa ekstrak biji pala memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*, kedua bakteri tersebut merupakan bakteri positif-gram, konsentrasi hambatan minimum pada penelitian tersebut ialah 12,5%, dalam penelitian tersebut juga menggunakan kontrol positif yaitu antibiotik sefuroksim, zona hambat yang terbentuk pada antibiotik sefuroksim lebih luas, dalam penelitiannya juga dikatakan bahwa lama waktu inkubasi dan konsentrasi ekstrak mempengaruhi zona hambat yang terbentuk. Kesimpulan dari penelitian yang dilakukan oleh Praisia dkk ialah ekstrak biji pala dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri positif-gram.⁽¹⁸⁾ Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Arrizqiyani dkk menggunakan ekstrak biji pala dari proses maserasi dan konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, 95% 85%, 95% dan 100% dengan metode difusi cakram didapatkan bahwa ekstrak biji pala dapat

menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, yang mana merupakan bakteri positif-gram dengan konsentrasi hambat minimum sebesar 25%.⁽¹⁹⁾

Menurut Jawetz dkk.⁽¹⁸⁾ aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, jenis dan jumlah bakteri yang dihambat. Dalam penelitian ini terlihat bahwa konsentrasi ekstrak biji pala tertinggi yaitu 80% menghasilkan zona hambat yang lebih luas dari konsentrasi yang lebih rendah. Biji pala mengandung senyawa aktif yang dapat memberikan efek antibakteri, yaitu flavonoid, saponin, dan minyak atsiri. Menurut Cushnie dan Lamb⁽²⁰⁾, flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat oleh karena cincin B pada flavonoid dapat mengganggu proses interkalasi atau pengikatan hidrogen pada komponen asam nukleat, selain itu flavonoid juga dapat menghambat metabolisme energi bakteri dengan menghambat konsumsi oksigen serta mengganggu rantai transpor elektron pada proses respirasi bakteri.

Dalam penelitian ini zona hambat yang terbentuk tergolong lemah, hal ini disebabkan karena *Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen dengan faktor virulensi yang sangat kompleks sehingga memiliki sifat resisten yang tinggi, bakteri ini juga mampu bertahan pada suhu yang tinggi, selain itu struktur dinding dari bakteri negatif-gram seperti *Pseudomonas aeruginosa* cenderung lebih tebal karena memiliki sistem membran ganda di mana membran plasmanya diselubungi oleh membran luar permeabel. Bakteri ini mempunyai dinding sel tebal berupa peptidoglikan, yang terletak di antara membran dalam dan membran luarnya. Membran luarnya terdiri dari lipid, protein, dan lipopolisakarida.⁽²¹⁾ Sifat patogen pada bakteri negatif-gram umumnya berkaitan dengan komponen tertentu pada dinding sel, terutama lapisan lipopolisakarida (dikenal juga dengan LPS atau endotoksin). Kemungkinan lain penyebab zona hambat yang terbentuk dalam respon lemah adalah kandungan glukosa pada ekstrak yang bisa menjadi nutrisi bagi bakteri. Keterbatasan pada penelitian ini ialah zona hambat tidak diukur menggunakan jangka sorong, sehingga ketepatan pengukuran kurang spesifik, tidak dilakukan analisis fitokimia dari biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) sehingga tidak dapat

diketahui senyawa antibakteri pada biji pala yang bekerja lebih dominan.

KESIMPULAN

1. Ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% mempunyai pengaruh antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak biji pala (*Myristica fragrans Houtt*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara kualitatif adalah pada konsentrasi 20%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Dr. Suriptiastuti DAP&E, MS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, dan Kepada Bagian Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti dan semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR REFERENSI

1. Bisht, R., Bhattacharaya, S. Some Medical Plants Of Uttarakhand (India) With Antimicrobial Activity – A Review, *Pharmacologyonline*, 2, 2011; 428- 39.
2. Wahyono, H. Peran Mikrobiologi Klinik Pada Penanganan Penyakit Infeksi. Makalah Pidato Pengukuhan Guru Besar Dalam Ilmu Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2007;6.
3. Kemenkes RI. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/Menkes/PER/XII/2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik, Jakarta: Menkes RI. 2011. Available at : http://www.binfar.depkes.go.id/dat/permenkes_antibiotik.pdf. Accessed on may 14 2017.
4. Soleha M. Detection Of Attaching And Effacing Virulence Gene Of E. Coli. Center For Biomedical And Applied Health Technology, National Institute Of Health Research And Development, Ministry Of Health Republic Indonesia. 2013;1(4):42-6.
5. Long SS, Dowell SF. Anti-infective therapy. Dalam: Long SS, Pickering LK, Prober CG. *Penyunting Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*, 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2007; 1422-32.
6. Toltzis P, Dul M, O’Riordan MA, Melnick D, Lo M, Blumer J. Meropenem use and colonization by antibiotic-resistant Gram-negative bacilli in a pediatric intensive care unit. *Crit Care Med*. 2009;10(1):49-54. doi: 10.1097/PCC.0b013e318193691a
7. Al-Lawati AM, Crouch ND, Elhag KM. Antibiotic consumption and the development of resistance among Gram-negative bacilli in intensive care units in Oman. *Annals of Saudi medicine* 2007;20(6):325-7.
8. Niederman MS. Appropriate use of antimicrobial agents: Challenges and strategies for improvement. *Crit Care Med* 2003;31(2):608-16. DOI: 10.1097/01.CCM.0000050464.70382.D6
9. Nurmala, IGN Virgiandhy, Andriani, Delima F. Liana. Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. *April* 2015;1(3):25-8. <https://doi.org/10.23886/ejki.3.4803>.
10. Nugraheni R, Suhartono, Winarni S. Infeksi Nosokomial Di RSUD Setjonegoro Kabupaten Wonosobo. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro. Semarang, Jawa Tengah. 2012;1(11):95-7. DOI: <https://doi.org/10.14710/mkmi.11.1.94-100>
11. Sukandar E Y, Tren dan Paradigma Dunia Farmasi, Industri-Klinik Teknologi Kesehatan, disampaikan dalam orasi ilmiah Dies Natalis ITB, Available at http://itb.ac.id/focus/focus_file/orasi-ilmiah-dies-45.pdf, Accessed on Mei 2017.
12. Oktora L. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian. Studi Farmasi Universitas Jember*. Jember, Jawa Timur. 2006; 1(3):1-7
13. Rachmi W, Zanuri A, Yuharmen. Perbandingan Isolasi Minyak Atsiri Biji Pala Cara Hidrodistilasi dan konvensional serta uji akitivitas antibakteri dan antioksidan. *JOM FMIPA*. 2014;2(1):335-42
14. Rismunandar. *Budidaya dan Tataniaga pala*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta. Cetakan kedua. 1992:7-8, 23, 81.
15. Morales G, Sierra P, Mancilla A, Paredes A, Loyola LA, Golaro O. Secondary metabolites from four medicinal plants from northern chile : Antimicrobial activity and biotoxicity againts artemia salina. *J Chil Chem Soc* 2013; 2(48):30-5. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072003000200002>
16. Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. *Microbiology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2007. 31-5.

17. Rumopa P.M.E, Awaloei H, Mambo C. Uji daya hambat ekstrak biji pala (*myristicae fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dan *streptococcus pyogenes* di Laboratorium Fitokimia dan Mikrobiologi Program studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi. Manado. Jurnal e-Biomedik (eBm). 2016;2(4):2-4.
18. Arrizqiyani T, Sonjaya N, Asty A. Optimalisasi Potensi Tanaman Pala Sebagai Antibakteri *Escherichia Coli* Menggunakan Metode Ekstraksi. Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. 2017: 377-81.
19. Jawetz E, Melnick J L, & Adelberg E A. Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan oleh Maulany R F, Edinugroho. Salemba Medika, Jakarta. 2005: 49,335,372
20. T.P. Tim Cushnie, Andrew J. Lamb. Antimicrobial activity of flavonoids. School of Pharmacy, The Robert Gordon University, Schoolhill, Aberdeen AB10 1FR, UK. International Journal of Antimicrobial Agents. 2005; (26):343–56. doi:10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002
21. Cooper GM, Hausman RE. The Cell: A Molecular Approach. 4th ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc. 2007;325-50