

Aplikasi minyak Pala Fakfak (*Myristica argentea* Warb) sebagai agen antimikroba penghambat mikroba patogen pada daging merah

Application of Nutmeg oil as antimicrobial agent againsts patogent microbial in red meet

Andi Fitra Suloi*, Nurmiati, Nur Faida,

Program Studi Agroindustri, Politeknik Negeri Fakfak

*Penulis Korespodensi: fitra@polinef.ac.id

Diterima Tanggal 30 Oktober 2023, Disetujui Tanggal 30 Januari 2024

DOI: <https://doi.org/10.51978/japp.v24i1.721>

Abstrak

Daging merupakan salah satu produk pangan yang sangat rentan terhadap kontaminasi bakteri patogen karena kandungan protein yang tinggi, sebagai sumber asam amino esensial, vitamin dan mineral. Bakteri yang bertanggung jawab atas kerusakan daging seperti *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit bahkan kematian. Pala Fakfak (*Myristica argentea* Warb) dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomi dan multiguna yang berperan sebagai agen antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengukur efektivitas minyak pala dalam penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta mengetahui pengaruh minyak pala dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada daging. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli hingga September 2023. Ekstraksi minyak pala menggunakan destilasi uap. Aktivitas antibakteri minyak pala diuji menggunakan metode cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen minyak pala Fakfak sangat rendah yakni 2.84%. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah $6,53 \pm 0,19$ mm sedangkan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah $3,43 \pm 0,19$ mm. Minyak pala efektif menghambat pertumbuhan mikroba pada konsentrasi minyak pala 15% selama 48 jam dengan jumlah mikroba 5×10^2 . Derajat keasaman terendah pada daging yang telah ditetesi minyak pala diinkubasi selama 24 jam pada perlakuan penambahan minyak pala sebesar 15% yakni 4,47.

Kata Kunci: aktivitas antibakteri, Fakfak, minyak pala

Abstract

Meat is a food product that is very susceptible to contamination by pathogenic bacteria due to its high protein content, as a source of essential amino acids, vitamins and minerals. Bacteria responsible for meat spoilage include *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*, which can cause illness and even death. Fakfak Nutmeg (*Myristica argentea* Warb) is known as a spice plant that has economic and multipurpose value and acts as an antibacterial agent. The objective of this research is to measure the effectiveness of nutmeg oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria and to determine the effect of nutmeg oil in inhibiting the growth of bacteria in meat. This research was conducted between July to September 2023. Nutmeg oil extraction used steam distillation. The antibacterial activity of nutmeg oil was tested by the disk method. The research result showed that the yield of Fakfak nutmeg oil was very low, specifically 2.84%. The inhibition zone of *Staphylococcus aureus* bacteria is 6.53 ± 0.19 mm, while the inhibition zone of *Escherichia coli* bacteria is 3.43 ± 0.19 mm. Nutmeg oil effectively inhibited microbial growth at a nutmeg oil concentration of 15% for 24 hours with microbial count of 5×10^2 . The lowest pH in meat that had been dripped with nutmeg oil was incubated for 24 hours in the treatment with the addition of 15% nutmeg oil, specifically 4.47.

Keywords: antibacterial activity, Fakfak, nutmeg oil

PENDAHULUAN

Daging merupakan salah satu produk pangan yang sangat rentan terhadap kontaminasi bakteri patogen karena kandungan protein yang tinggi, sebagai sumber asam amino esensial, vitamin dan mineral. Komposisi tersebut menyebabkan daging mudah mengalami kerusakan karena menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme (Cao *et al.*, 2013). Bakteri yang bertanggung jawab atas kerusakan daging seperti *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan penyakit bahkan kematian (Yemis & Candogan, 2017). Diperkirakan sebanyak 30% populasi di Negara industri menderita *foodborne disease* setiap tahunnya yang dikaitkan dengan konsumsi daging segar maupun produk olahan karena terkontaminasi *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Kim *et al.*, 2014).

Melihat fenomena tersebut, diperlukan upaya untuk memperpanjang masa simpan daging dan mengurangi kontaminasi patogen dengan menggunakan senyawa antimikroba. Namun penggunaan antimikroba sintetik belakang ini banyak dilaporkan memiliki efek residual terhadap kesehatan seperti efek karsinogenik, alergi makanan, dan toksisitas (Alirezalu *et al.*, 2020). Oleh karena itu, penelitian terkait zat antimikroba alami yang aman digunakan pada makanan menjadi esensial untuk saat ini. Potensi minyak atsiri dari tanaman banyak dipelajari sebagai pengawet alami makanan karena memiliki aktivitas antimikroba terhadap berbagai macam bakteri pembusuk dan patogen (Ebrahimabadi *et al.*, 2010; Hossain *et al.*, 2014).

Salah satu komoditi unggulan Fakfak, Provinsi Papua Barat ialah tanaman pala. Pala Fakfak b dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomi dan multiguna.

Tingkat produksi pala di Papua Barat pada tahun 2018 sebesar 22,63% dari total produksi pala secara nasional sedangkan tingkat produktivitasnya mencapai 122% diatas produktivitas nasional (Dinas Pertanian, 2022). Tanaman pala mengandung sekitar 5-15% minyak esensial, yang sebagian besar terdiri dari hidrokarbon terpen (sabin dan pinena), turunan terpen (linalool, geraniol, terpineol) dan turunan fenilpropanoid (miristin, elemisin, safrol, dan eugenol) (Francis *et al.*, 2019; Ashokkumar *et al.*, 2022). Berbagai penelitian menunjukkan efektifitas pala sebagai antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, dan antikanker (Das *et al.*, 2020; Kholibrina *et al.*, 2021). Cui *et al* (2015) menunjukkan aktivitas penghambatan minyak pala terhadap bakteri gram positif (*S. aureus* dan *B. subtilis*) dan bakteri gram negatif (*E. coli*, *S. typhi*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *B. pumilus*) dengan konsentrasi penghambatan minimum 0.05% dan konsentrasi bakteriosida minimum 0.1%. Penelitian ini juga menunjukkan pengurangan populasi *E. coli* dan *S. aureus* sebesar 99% setelah diinkubasi selama 8 jam dengan minyak pala. Melihat berbagai potensi tersebut, perlu untuk mengkaji pengaplikasian minyak atsiri pala sebagai pengawet daging.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga September 2023 di Laboratorium Pangolahan Pangan, Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Analisa Pangan, Jurusan Agroindustri Politeknik Negeri Fakfak. Pengujian Aktivitas Antibakteri dilakukan di Laboratorium Badan Riset dan Inovasi Nasional, Daerah Istimewa Yogyakarta.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan ialah biji pala yang diperoleh dari para petani pala di

Kabupaten Fakfak, Papua Barat, daging sapi, air, alkohol 70%, kertas cakram, buffer pepton, media *Plate Count Agar*, media *Tryptone Bile Glucuronic Agar* (TBX agar), media *Nutrient Agar* (NA), biakan bakteri *Escherichia coli*, biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, NaOH 0,1 N, indikator phenolphthalein, akuades, kapas, label, kertas sterilisasi, kertas saring whatman, *stomacher bag*, aluminium foil, dan tisu.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ialah labu destilasi, *hot plate*, termometer, botol, inkubator, timbangan analitik, oven pengering, cawan petri, *colony counter*, rak tabung, pH meter, *stomacher*, *laminar air flow*, *autoclave*, buret, bulb, serta alat-alat *glassware* seperti gelas kimia, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, pipet volume, dan corong.

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi Minyak Biji Pala

Biji pala (umur panen 9 bulan mulai dari bunga) dikeringkan atau diasar selama 7 hari kemudian di hancurkan menggunakan grinder. Selanjutnya penyulingan minyak atsiri dilakukan dengan proses distilasi. Distilasi dimulai dengan memasukkan 100 g serbuk biji pala ke dalam labu yang telah diisi air, kemudian dipanaskan selama 5-6 jam pada suhu 80°C hingga minyak atsiri menguap sempurna. Minyak atsiri yang diperoleh disimpan dalam botol gelap pada suhu 4 °C (Piaru *et al.*, 2012).

2. Perhitungan Rendemen

Minyak pala yang dihasilkan dihitung rendemennya dengan menimbang berat awal bahan baku dan ekstrak minyak yang dihasilkan, lalu dimasukkan ke dalam rumus :

$$\% \text{ Minyak pala} = \frac{\text{jumlah bahan baku (g)}}{\text{ekstrak minyak (g)}} \times 100\%$$

3. Pengujian Daya Hambat *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Cakram

Kultur bakteri *Escherichia coli* dan kultur bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi

dengan metode *spread plate* pada media NA lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Uji daya hambat menggunakan metode difusi sumuran. Metode ini dilakukan dengan ditusukkan pada media kisaran diameter 7 mm sebanyak 3 lubang. Konsentrasi ekstraksi minyak pala dimasukkan ke dalam lubang lalu membiarkan cawan petri melakukan proses difusi selama 5-10 menit lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Chiao-Wei *et al.*, 2011).

4. Analisis *Total Plate Count* pada Daging

1 gram sampel dihomogenkan selama 3 menit menggunakan *stomacher* pada 180 mL buffer pepton. Kemudian dilakukan pengenceran (hingga 10⁻⁷). 1 ml dari pengenceran 10⁻³, 10⁻⁵ dan 10⁻⁷ ditempatkan pada cawan petri steril dan dituangkan media sesuai dengan jenis mikroorganisme yang akan ditumbuhkan. Total bakteri ditumbuhkan pada PCA (*Plate Count Agar*) dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, koloni dihitung dan diidentifikasi secara morfologi. Hasil dinyatakan sebagai sejumlah unit pembentuk koloni per gram (cfu/ml) (Sojic *et al.*, 2015).

5. Pengujian pH

Sampel sebanyak 5 g dicampur dengan 50 ml aquades (1:10), kemudian dihaluskan dengan *stomacher*. Sampel kemudian dipindahkan ke gelas kimia. Elektroda pH meter yang telah dikalibrasi dicelupkan kedalam sampel. Nilai pH akan terlihat pada pH meter beberapa saat setelah pH meter menunjukkan angka yang konstan (AOAC, 2005).

6. Pengaplikasian Minyak Pala pada Daging Sapi

1 gr daging segar dimasukkan ke dalam vial 10 mL lalu ditetesi minyak pala sesuai perlakuan (5%, 10%, dan 15%), kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama dua hari. Setelah diinkubasi, dilakukan perhitungan jumlah koloni mikroba menggunakan metode *spread plate*. Daging yang telah diinkubasi dihaluskan menggunakan *stomacher* dengan

penambahan aquades steril 9 mL. Proses penghalusan daging dilakukan selama 5 menit pada 240 rpm. Homogenat atau sampel kemudian dipindahkan ke tabung reaksi steril. Sampel (1 mL) diencerkan dalam 9 mL larutan aquades steril hingga 10^{-6} dan 100 μL dari setiap pengeceran diplating pada cawan petri yang berisi media PCA (*Plate Count Agar*). Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dihitung jumlah koloninya. Semua alat dan bahan yang digunakan telah disterilisasi menggunakan autoclave pada 121°C selama 15 menit (Suloi *et al.*, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Rendemen minyak biji pala merupakan hasil perbandingan antara massa minyak biji pala dengan massa bahan baku yang digunakan. Rendemen yang dihasilkan dinyatakan dalam satuan persen (%). Hasil destilasi menunjukkan bahwa kadar minyak biji pala Fakfak sebesar 2,48%. Hasil rendemen minyak biji pala dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen minyak biji Pala Fakfak

Sampel	Ulangan			Kadar minyak pala (% b/b)	Referensi
	U1	U2	U3		
Minyak Pala Fakfak	2,73	2,26	2,46	$2,48 \pm 0,24$	$*3,11\% \pm 0,23$

Keterangan: Data merupakan hasil rerata dari 3 kali ulangan \pm standar deviasi

*Referensi merupakan rendemen minyak biji pala Papua (Ma'mun, 2013)

Berdasarkan Tabel 1 rendemen minyak pala yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan rendemen minyak pala yang diperoleh pada penelitian (Ma'mun, 2013) yakni sebesar 3,11%. Tinggi rendahnya kandungan minyak dipengaruhi oleh lokasi tempat tumbuh, perubahan jenis tanah, metode ekstraksi dan kondisi lingkungan (Ashokkumar *et al.*, 2020). Rasio padatan dan pelarut berpengaruh signifikan terhadap rendemen yang dihasilkan (Golmakani & Rezaei, 2008).

Pengujian daya hambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hasil zona hambat minyak biji pala terhadap bakteri *Escherichia coli* sebagai bakteri gram (-) dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram (+) dapat dilihat pada Gambar 1.

Pengujian aktivitas antibakteri minyak biji pala menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 15%. Biakan bakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli* sebagai bakteri gram (-) dan

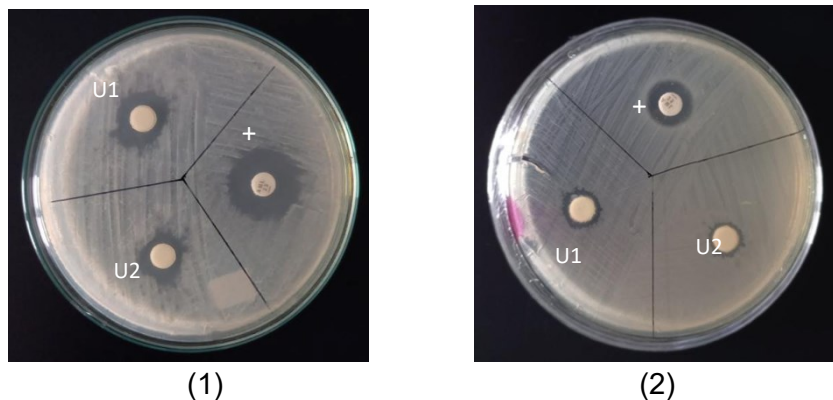
Staphylococcus aureus sebagai bakteri gram (+). Antibakteri yang digunakan sebagai kontrol adalah *amoxicillin*.

Gambar 2 menunjukkan bahwa minyak biji pala Fakfak lebih efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli*. Zona hambat minyak pala Fakfak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah $6,53 \pm 0,19$ mm sedangkan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah $3,43 \pm 0,19$ mm. Hasil pengukuran zona hambat minyak pala Fakfak tergolong kuat untuk bakteri *Staphylococcus aureus* karena diameter zona hambat yang terbentuk <5 mm, sedangkan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* tergolong lemah. Ibrahim *et al.*, (2013) melaporkan bahwa minyak pala (*Myristica fragrans*) bertindak sebagai agen antimikroba pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 15 mm, sedangkan untuk bakteri *Escherichia coli* sebesar 14 mm (Nikolic *et al.*, 2021). Hasil lain ditunjukkan oleh (Cui *et al.*,

2015) dimana aktivitas penghambatan minyak pala terhadap bakteri gram positif (*S. aureus* dan *B. subtilis*) dan bakteri gram negatif (*E. coli*, *S. typhi*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *B. pumilus*) dengan konsentrasi penghambatan minimum 0.05% dan konsentrasi bakteriosida minimum 0.1%.

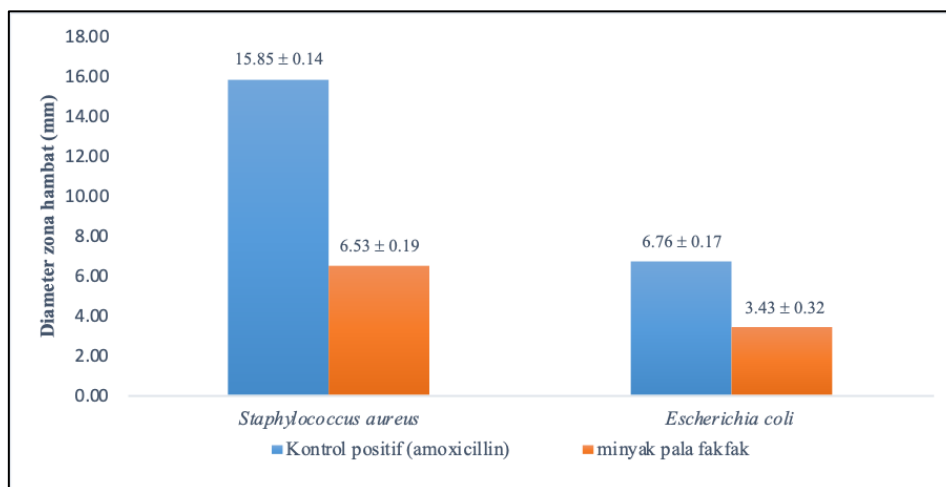
Minyak pala efektif menghambat bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan oleh perbedaan bakteri yang digunakan berdasarkan dinding penyusunnya. Bakteri gram positif, mengandung 35-60% polisakarida dan hanya 0-2% lipid, sedangkan bakteri gram negatif mengandung 15-20% polisakarida dan 10-

20% lipid (Ibrahim *et al.*, 2013). Setiap bakteri memiliki resistensi tersendiri terhadap sifat fisik dan kimia yang dimiliki oleh senyawa antibakteri. Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Cowan & Talaro, 2009). Selain itu, bakteri gram negatif mempunyai lapisan protein dan lipoprotein yang berfungsi sebagai pelindung. Mekanisme penghambatan terhadap bakteri dengan merusak membrane sel, menghambat sintesis protein dan enzim spesifik yang mengganggu membrane sel dan fungsi biologis sel (Nurjanah *et al.*, 2017).



Gambar 1. Aktivitas antibakteri minyak biji Pala Fakfak (*Myristica argentea* Warb)

Keterangan : (1) Zona hambat kontrol (+) dengan amoxicillin, zona hambat *Staphylococcus aureus*; (2) Zona hambat kontrol (+) dengan amoxicillin, zona hambat *Escherichia coli*



Gambar 2. Rerata zona hambat minyak pala terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Keterangan: Data merupakan hasil rerata dari 2 kali ulangan ± koefisien of variance

Analisis Total Plate Count pada Daging

Total Plate Count dilakukan untuk menunjukkan jumlah mikroorganisme dalam suatu sampel, yang mana prinsipnya jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel mikroba tersebut akan berkembangbiak dan membentuk koloni. Semakin banyak koloni yang tumbuh mengindikasikan semakin banyak total mikroba didalamnya. Hasil pengujian *total plate count* menunjukkan bahwa minyak pala efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil analisis total mikroba pada sampel daging dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa minyak pala paling efektif menghambat pertumbuhan mikroba pada konsentrasi 15%, dimana pada pengenceran 10^{-1} telah mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Berbeda pada sampel kontrol hingga penggunaan minyak pala 10%, jumlah koloni yang tumbuh hingga pengenceran 10^{-3} lebih dari 300 koloni (TBUD). Walaupun jumlah koloni pada penggunaan minyak pala 10% pengenceran 10^{-7} lebih tinggi dibandingkn kontrol dan sampel lainnya, perbedaan tersebut tidak signifikan karena jumlah koloni semua sampel dibawah 30 atau termasuk kategori TSUD. Penurunan jumlah koloni seiring dengan peningkatan konsentrasi minyak pala dimungkinkan karena adanya kandungan antimikroba didalam minyak pala. Menurut Cosentino *et al.*, (2022), salah satu senyawa utama dalam minyak pala ialah cinamaldehyde yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* dengan cara menipiskan tingkat ATP intraseluler. Selanjutnya, menurut Suloi (2021), minyak pala mengandung trimiristin yaitu metabolit sekunder penghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian (Burt & Reinders, 2003) menunjukkan bahwa penambahan minyak atsiri sebanyak 0,6% pada daging dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*

selama penyimpanan pada suhu 10°C dengan total mikroba 2 log cfu/g.

Tabel 2. Hasil analisis total mikroba pada daging merah

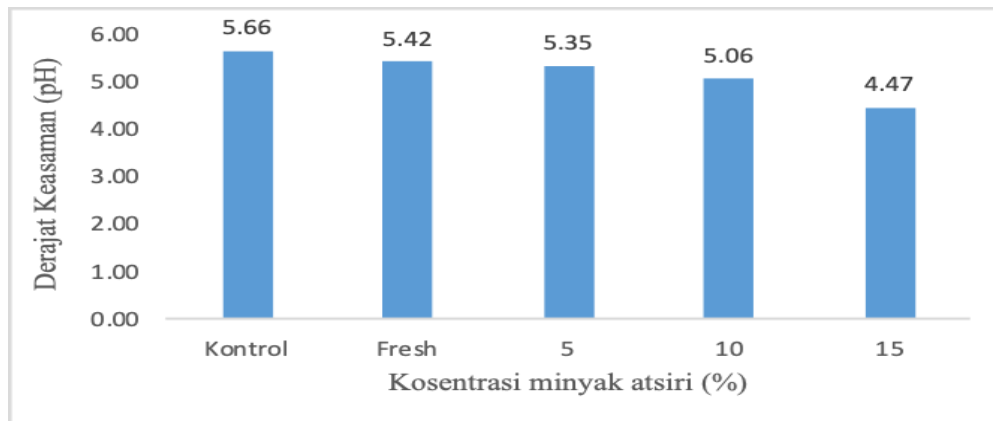
Konsentrasi minyak pala (%)	Total Plate Count (TPC) cfu/ml Pengenceran			
	10^{-1}	10^{-3}	10^{-5}	10^{-7}
Kontrol	TBUD	TBUD	72	0
Fresh	TBUD	TBUD	6	1
5	TBUD	TBUD	13	2
10	TBUD	TBUD	9	6
15	50	21	0	0

Keterangan : TBUD <30 atau >300 cfu/ml

Mekanisme penghambatan terhadap bakteri antara lain yaitu merusak membran sel, menghambat sintesis protein, dan mengganggu aktivitas spesifik enzim dan fungsi biologis sel. Minyak pala merusak membran dan mengubah permeabilitas sel menyebabkan pelepasan beberapa komponen seluler seperti ATP. Selain itu, minyak pala dapat mengganggu sintesis DNA sel bakteri, yang menyebabkan kematian bakteri (Cui *et al.*, 2015). Sifat hidrofobik dari minyak atsiri menyebabkan akumulasi pada lapisan ganda fosfolipid membrane sitoplasma, megakibatkan hilangnya struktur, permeabilitas, konstituen seluler, dan fungsi dari membran (Jayasena & Jo, 2013). Selain itu, minyak atsiri secara signifikan bergerak melintasi lipid dari membran sel bakteri dan mengganggu struktur dinding sel (Cosentino *et al.*, 2022).

Analisis Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaaan yang dimiliki oleh suatu bahan. Nilai pH dapat diukur dengan menggunakan skala pH antara 0 hingga 14. Keasaman dalam larutan dinyatakan sebagai kadar ion hidrogen disingkat dengan $[\text{H}^+]$, atau sebagai pH yang artinya $-\log [\text{H}^+]$ (Utomo, 2013). Hasil analisis pH pada daging yang telah ditetesi minyak pala dengan berbagai jenis perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Rerata pH daging merah

Hasil uji pH pada daging yang telah diinkubasi selama 48 jam diperoleh pH tertinggi pada daging kontrol yakni 5,66, sedangkan pH terendah pada perlakuan penambahan minyak pala sebesar 15% yakni 4.47. Hasil pH daging pada penelitian ini tergolong segar karena ambang batas maksimum pH yang dapat ditoleransi adalah pH dibawah 7,0. Hal ini sesuai dengan pendapat (Kose & Erdem, 2004), yang menyatakan bahwa ketika pH diatas 7,0 makan bahan tersebut cenderung sudah busuk. Tinggi rendahnya pH pada produk dipengaruhi oleh faktor penyimpanan produk. Daging yang mempunyai pH tinggi disebabkan karena timbulnya senyawa-senyawa yang bersifat basa seperti amoniak, trimetilamin, dan senyawa-senyawa volatile lainnya yang dapat menurunkan nilai organoleptik dari produk.

Chamidah *et al.* (2000) menyatakan bahwa selama penyimpanan terjadi penguraian protein menjadi senyawa basa antara lain amoniak. Nilai pH bahan pangan selama penyimpanan dapat berubah karena adanya protein yang terurai oleh enzim proteolitik dan bantuan bakteri menjadi asam karboksilat, asam sulfida, amoniak dan jenis asam lainnya. Menurut (Bawinto *et al.*, 2015) bahwa pH yang baik untuk daging yang diawetkan antara 2,0 – 5,0 sedangkan pH

antara 6,0 – 8,0 merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme.

KESIMPULAN

Kandungan minyak atsiri biji pala Fakfak rata-rata 2.48%. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah $6,53 \pm 0,19$ mm sedangkan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah $3,43 \pm 0,19$ mm. Minyak pala efektif menghambat pertumbuhan mikroba pada konsentrasi minyak pala 15%. pH terendah pada daging 4,47 dengan konsentrasi minyak pala 15%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Vokasi yang telah memberikan bantuan dana sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Pimpinan Politeknik Negeri Fakfak dan Kepala Pusat Penelitian dan Pengabdian Politeknik Negeri Fakfak yang telah mendukung dan memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Alirezalu, K., Pateiro, M., Yaghoubi, M., Alirezalu, A., Peighambardoust, S. H., & Lorenzo, J. M. (2020). Phytochemical constituents, advanced extraction

- technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 292-306.
- AOAC (2005) 'Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists'. Virginia: Association of Official Chemist Inc.
- Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M. K., Raj, S., & Kamaraj, D. (2020). Phytochemical variations among four distinct varieties of Indian cardamom *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Natural product research*, 34(13), 1919-1922.
- Ashokkumar, K., Simal-Gandara, J., Murugan, M., Dhanya, M. K., & Pandian, A. (2022). Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) essential oil: A review on its composition, biological, and pharmacological activities. *Phytotherapy Research*, 36(7), 2839-2851.
- Bawinto, A. S., Mongi, E. L., & Kaseger, B. E. (2015). Analisa kadar air, pH, organoleptik, dan kapang pada produk ikan tuna (*Thunnus* Sp) asap, di Kelurahan Girian Bawah, Kota Bitung, Sulawesi Utara. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 3(2), 55-65.
- Burt, S. A., and Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157: H7. *Letters in applied microbiology*, 36(3), 162-167.
- Cao, Y., Chang, Z., Wang, J., Ma, Y., & Fu, G. (2013). The fate of antagonistic microorganisms and antimicrobial substances during anaerobic digestion of pig and dairy manure. *Bioresource Technology*, 136, 664-671.
- Chamidah, A., Tjahyono, A., & Rosidi, D. (2000). Penggunaan metode pengasapan cair dalam pengembangan ikan bandeng asap tradisional. *Jurnal Ilmu-ilmu Teknik*, 12(1), 88-90.
- Chiao-Wei, C., Siew-Ling, H., & Ching-Lee, W. (2011). Antibacterial activity of *Sargassum polycystum* C. Agardh and *Padina australis* Hauck (phaeophyceae). *African Journal of Biotechnology*, 10(64), 14125-14131.
- Cosentino, S. C. I. G., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M. L., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (2022) 'In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29(2), 130-135.
- Cowan, M. K., & Talaro, K. P. (2009). *Microbiology: a systems approach*, McGraw-Hill Higher Education.
- Cui, H., Zhang, X., Zhou, H., Zhao, C., Xiao, Z., Lin, L., & Li, C. (2015). Antibacterial Properties of Nutmeg Oil in Pork and its possible mechanism. *Journal of Food Safety*, 35(3), 370-377.
- Das, S., Kumar Singh, V., Kumar Dwivedy, A., Kumar Chaudhari, A., Upadhyay, N., Singh, A., & Dubey, N. K. (2020). Assessment of chemically characterised *Myristica fragrans* essential oil against fungi contaminating stored scented rice and its mode of action as novel aflatoxin inhibitor. *Natural Product Research*, 34(11), 1611-1615.
- Dinas Pertanian (2022) 'Pala Varietas Unggul Nasional'
<https://ditjenbun.pertanian.go.id/mengenal-pala-varietas-unggul-nasional/>. Tanggal Akses 4 April 2023.
- Ebrahimabadi, A.H., Djafara-Bigdoli, Z., Mazoochi, A., Kashi, F. J., & Batooli, H. (2010). Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of the leaves and flowers of *Chaerophyllum macropodium* Boiss. *Food Control*, 21(8), 1173–1178.
- Francis, S. K., James, B., Varughese, S., & Nair, M. S. (2019). Phytochemical investigation on *Myristica fragrans* stem bark. *Natural Product Research*, 33(8): 1204-1208.
- Golmakani, M. T., & Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry*, 109(4), 925-930.
- Hossain, M. A., Harbi, S. R., Weli, A. M., Al-Riyami, Q., & Al-Sabahi, J.N. (2014). Comparison of chemical constituents and antimicrobial activities of three essential oils from three different brands

- clove samples collected from Gulf region. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(4), 262–268.
- Ibrahim, K. M., Naem, R. K., & Abd-Sahib, A. S. (2013). Antibacterial activity of nutmeg (*Myristica fragrans*) seed extracts against some pathogenic bacteria. *Al-Nahrain Journal of Science*, 16(2), 188-192.
- Jayasena, D.D., & Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends Food Science and Technology*, 34(2), 96–108.
- Kholibrina, C. R., & Aswandi, A. (2021). The aromatherapy formulation of essential oils in reducing stress and blood pressure on human. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 914(1): 012072. IOP Publishing.
- Kim, H. J., Jung, S., Yong, H., Young, S.B., Kang, S.N., Kim, S., & Jo, C. (2014). Improvement of microbiological safety and sensorial quality of pork jerky by electron beam irradiation and by addition of onion peel extract and barbecue flavor. *Radiation Physics and Chemistry*, 98, 22–28.
- Köse, S., & Erdem, M. E. (2004). An Investigation of Quality Changes in Anchovy (*Engraulis Encrasicolus*, L. 1758) Stored at Different Temperatures. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 28(3), 575-582.
- Ma'mun. (2013). Karakteristik Minyak dan Isolasi Trimiristin Biji Pala Papua (*Myristica argantea*). *Jurnal Littri*. Vol. 19 (2), pp.72-77.
- Nikolic, L., Dinic, A., Gajic, I., Urosevic, M., Stanojevic, L., & Danilovic, B. (2021). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) seed essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(2), 218-227.
- Nurjanah, S., Putri, I. L., & Sugiarti, D. P. (2017). Antibacterial Activity of Nutmeg Oil' 2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Food Security: A Comprehensive Approach. *KnELife Sciences*, 563-569.
- Piaru, S. P., Mahmud, R., Majid, A. M. S., & Nassar, Z. D. M. (2012). Antioxidant and antiangiogenic activities of the essential oils of *Myristica fragrans* and *Morinda citrifolia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(4), 294-298.
- Sojic, B., Tomovic, V., Tanackov, S. K., Skaljic, S., Ikonc, P., Dzinic, N., Zivkovic, N., Jakanovic, M., Tasic, T., & Kravic, S. (2015). Effect of nutmeg (*Myristica fragrans*) essential oil on the oxidative and microbial stability of cooked sausageduring refrigerated storage. *Food Control*, 54, 282-286.
- Suloi, A. F. (2021). Bioaktivitas Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Ulasan Ilmiah. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 3(1), 11-18.
- Suloi, A. F., & Faida, N. (2023). Efektifitas Minyak Pala Fakfak (*Myristica argentea* Warb) terhadap Mikroba Patogen dengan Metode Total Plate Count (TPC). *Jurnal Informasi, Sains dan Teknologi*, 6(02), 126-224.
- Utomo. (2013). *Media Pembelajaran Aktif Nuansa Cendekia*, Bandung.
- Yemis, G. P., & Candoğan, K. (2017). Antibacterial activity of soy edible coatings incorporated with thyme and oregano essential oils on beef against pathogenic bacteria. *Food science and biotechnology*, 26, 1113-1121.