

Aktivitas Penghambatan Minyak Atsiri dan Ekstrak Kasar Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt dan *Myristica fattua* Houtt) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Xanthomonas campestris* Oammel asal Tanaman Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*)

The inhibition activity of essential oil and crude extract of nutmeg seeds (Myristica fragrans Houtt and Myristica fattua Houtt) on the growth of Xanthomonas campestris Oammel from broccoli (Brassica oleracea var. italica)

GALUH SARI KUSUMANINGRUM, SURANTO*, RATNA SETYANINGSIH

Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta 57126.

*Korespondensi: suranto@mipa.uns.ac.id. Tel./Faks. +6271-663375.

Diterima: 22 Juli 2002. Disetujui: 11 Nopember 2002.

Abstract. The aims of this research were to study the inhibition activity of essential oil and crude extract of nutmeg seed (*Myristica fragrans* and *M. fattua*) on the growth of *Xanthomonas campestris*, which is a pathogen to broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), to find out the best concentration of those substances to prevent *X. campestris* and to compare the inhibition activity of both substances on the growth of *X. campestris*. The essential oil of nutmeg seed (*M. fragrans* and *M. fattua*) was obtained by Stahl distillation, while crude extract of the nutmeg seeds was extracted by methanol method. The method of this research was *the disk diffusion method* on nutrient agar. The paper disk was streaked on an agar medium with *X. campestris* to be tested. Each petri dish was placed 5 paper disks dropped with the essential oil and the crude extract of the nutmeg seed in concentrations of 100%, 10%, 1% respectively, while for the comparison, the bactericide Agrept 0,2% was used. The parameters measured were the inhibition zone from the essential oil and the crude extract of the nutmeg seeds. The result of the analysis indicated that the essential oil of *M. fragrans* effectively inhibited *X. campestris* starting at a concentration of 1%, the essential oil of *M. fattua* effectively inhibited *X. campestris* at a concentration of 10%, and the crude extract of *M. fragrans* effectively inhibited *X. campestris* at a concentration of 100%. The crude extract of *M. fattua* was not effective in inhibiting the growth of *X. campestris*.

Keywords: inhibition activity, nutmeg seed's, *Xanthomonas campestris*.

PENDAHULUAN

Brokoli atau kubis bunga hijau sering dimanfaatkan sebagai bahan makanan atau sayur-sayuran. Varietas brokoli unggul umumnya mempunyai massa bunga berwarna hijau gelap atau hijau kebiru-biruan. Produksi brokoli di Indonesia relatif masih terbatas dibandingkan kubis bunga putih. Hal ini menyebabkan harga brokoli relatif lebih mahal, sehingga lebih banyak dikonsumsi oleh masyarakat kalangan menengah ke atas di kota-kota besar. Brokoli banyak dikonsumsi sebagai sayuran segar karena kaya akan vitamin dan mineral. Bahkan saat ini, brokoli diketahui berkhasiat mencegah dan menghambat perkembangan sel kanker (Dalimartha, 1999; Rismunandar, 1992).

Tingginya produksi brokoli sangat tergantung pada kualitas hasil panen, terutama pada massa bunganya. Penurunan kualitas brokoli umumnya disebabkan oleh serangan hama dan penyakit, sehingga mutu dan harganya merosot. Salah satu penyakit yang banyak menyerang tanaman ini dan bersifat sangat merugikan adalah penyakit "busuk hitam" yang disebabkan bakteri *Xanthomonas campestris* Oammel (Pracaya, 1999). Menurut Pantastico (1986) penyakit ini merupakan penyakit

pembuluh yang menyebabkan urat-urat daun menjadi hitam. Mengacu Pracaya (1999), gejala awalnya berupa bercak mirip huruf V berwarna kuning di bagian tepi ujung daun yang meluas menuju tulang daun tengah.

Berbagai langkah pengendalian terhadap penyakit "busuk hitam" telah dilakukan untuk meningkatkan produksi brokoli. Pengendalian ini dimaksudkan untuk mencegah penyebaran penyakit serta membasmi bakteri pada inang yang terinfeksi. Penerapan pengendalian penyakit dapat dilakukan secara fisik ataupun kimia, namun penerapan praktis berbagai teknik dan sarana ini seringkali mempunyai keterbatasan. Misalnya, pengendalian penyakit dengan bahan kimia seperti bakterisida sintetik seringkali berdampak negatif bagi kesehatan manusia dan lingkungan, selain itu harganya tergolong mahal.

Banyak penelitian menunjukkan adanya bahan-bahan alam alternatif yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Bahan ini diketahui memiliki daya hambat (bakteristatik) atau daya bunuh (bakterisida) terhadap penyakit yang menyerang tanaman, antara lain minyak atsiri dan ekstrak kasar tanaman rempah-rempah. Dalam tulisan ini minyak atsiri didefinisikan sebagai hasil proses

distilasi, adapun ekstrak kasar didefinisikan sebagai hasil proses ekstraksi dengan pelarut organik (Setyawan, 2002, komunikasi pribadi).

Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Supriadi *et al.* (1999) minyak atsiri memiliki daya antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasarnya, hal ini kemungkinan karena senyawa aktif dalam minyak atsiri lebih banyak dibanding dalam ekstrak kasar. Minyak atsiri merupakan salah satu produk metabolisme sekunder, yang dihasilkan dari berbagai jaringan tanaman. Mengacu pada Kurniawati (1998) penelitian tentang minyak atsiri saat ini banyak diarahkan untuk memanfaatkannya sebagai antimikroba penyakit yang disebabkan oleh bakteri atau jamur.

Salah satu tanaman yang tergolong rempah-rempah dan penghasil minyak atsiri adalah tanaman pala, khususnya biji pala baik jenis *Myristica fragrans* Houtt maupun *Myristica fattua* Houtt. Menurut Stahl (1985) biji pala mengandung minyak atsiri yang terdiri dari miristisin dan monoterpena-monoterpena lain. Selanjutnya dinyatakan, kandungan minyak atsiri biji pala berkisar antara 5-15%. Mengacu pada Praptosuwiryo (2001) minyak atsiri biji pala diketahui memiliki aktivitas sebagai bakterisida.

Tujuan penelitian ini adalah (i) menguji aktivitas penghambatan minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* terhadap pertumbuhan bakteri *X. campestris*, (ii) menemukan konsentrasi efektif penghambatan minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* terhadap pertumbuhan bakteri *X. campestris*, serta (iii) membandingkan aktivitas penghambatan minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* terhadap pertumbuhan bakteri *X. campestris*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah tanaman brokoli yang diambil dari Kopeng Salatiga, biji pala jenis *Myristica fragrans* Houtt dan *Myristica fattua* Houtt yang didapat dari Kebun Raya Bogor, medium nutrisi agar, akuades, metanol 80%, alkohol, spiritus, Agrept 0,2%. Peralatan yang digunakan adalah blender elektrik, cawan petri, tabung reaksi, seperangkat alat destilasi stahl, *vortex mixer*, *autoclave*, *vacuum borer*, pipet, batang gelas, bunsen, inkubator, kapas, seperangkat alat kromatografi GC dan GC-MS, gelas ukur, erlenmeyer, timbangan, kompor listrik, gelas benda, mikroskop, jarum ose, pisau, aluminium foil, kertas steril bulat ϕ 6 mm.

Cara kerja

Pembuatan serbuk biji pala. Biji pala yang masih terbungkus tempurung berumur 5 bulan dicuci bersih dengan akuades. Biji pala dijemur di bawah sinar matahari tidak langsung dengan ditutupi kain hitam selama 2 minggu. Tempurung biji dipisahkan, untuk mengambil bijinya. Biji pala dipotong-potong 2 mm, kemudian diblender hingga

menjadi serbuk. Selanjutnya serbuk akan didistilasi dengan metanol untuk menghasilkan minyak atsiri dan diekstraksi dengan metanol pula untuk menghasilkan ekstrak kasar.

Penyulingan minyak atsiri. Penyulingan minyak atsiri dilakukan dengan proses distilasi. Distilasi dimulai dengan memasukkan 100 g serbuk biji pala ke dalam labu yang telah diisi metanol 80%, 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. Minyak atsiri diencerkan dengan melarutkan 1 ml minyak atsiri ke dalam 99 ml metanol 80% untuk konsentrasi 1%, melarutkan 1 ml minyak atsiri ke dalam 9 ml metanol 80% untuk konsentrasi 10% dan tanpa penambahan metanol 80% untuk konsentrasi 100%, sehingga didapatkan konsentrasi akhir 1%, 10%, 100% (v/v) yang akan digunakan dalam uji aktivitas penghambatan bakteri (Supriadi *et al.*, 1999).

Pembuatan ekstrak kasar. Sebanyak 1 g serbuk biji pala masing-masing dilarutkan dalam 1 ml metanol absolut, dikocok agar tercampur sempurna kemudian dibiarkan selama 24 jam. Serbuk yang telah tercampur disaring dengan *vacuum borer* dan diambil filtratnya. Filtrat diencerkan dengan melarutkan 1 ml ekstrak kasar ke dalam 99 ml metanol 80% untuk konsentrasi 1%, melarutkan 1 ml ekstrak kasar ke dalam 9 ml metanol 80% untuk konsentrasi 10% dan tanpa penambahan metanol 80% untuk konsentrasi 100%, sehingga didapatkan konsentrasi akhir 1%, 10%, 100% (v/v) yang akan digunakan dalam uji aktivitas penghambatan bakteri (Supriadi *et al.*, 1999).

Isolasi bakteri *X. campestris*. Bakteri *X. campestris* diisolasi dari tanaman brokoli sakit. Brokoli dicuci dengan akuades steril, kemudian dipotong-potong batang dan massa bunganya. Koloni bakteri yang terdapat dalam batang dan massa bunga disuspensikan ke dalam akuades steril dan ditumbuhkan di medium nutrisi agar. Koloni-koloni yang sesuai dengan sifat dari bakteri *X. campestris* dipisahkan secara goresan sehingga diperoleh biakan murni. Koloni-koloni bakteri *X. campestris* yang tumbuh kemudian diidentifikasi (Jutono, 1973).

Identifikasi bakteri. Identifikasi dilakukan dengan mengamati adanya koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna kuning yang tumbuh di medium. Untuk mengamati morfologi sel bakteri *X. campestris* dilakukan pewarnaan Gram. Morfologi bakteri yang didapatkan, diamati secara mikroskopis dan diidentifikasi berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* edisi 9 tahun 1994 (Buchanan dan Gibbons, 1994). Uji biokimia terhadap bakteri *X. campestris* yang dilakukan adalah uji katalase dan uji fermentasi terhadap laktosa.

Penghambatan *X. campestris* oleh minyak atsiri dan ekstrak kasar biji pala. Pengujian aktivitas penghambatan bakteri dari minyak atsiri dan ekstrak kasar biji pala secara *in vitro* dengan menggunakan "Disk Diffusion Method" (Jacquelyn, 1999).

Minyak atsiri biji *M. fragrans* dan *M. fattua* dengan konsentrasi 100%, 10%, 1% (v/v) sebanyak 15 µl diteteskan pada kertas steril berdiameter 6 mm. Kertas uji diletakkan secara terpisah di permukaan medium nutrisi agar yang telah diinokulasi dengan bakteri *X. campestris* umur 24 jam. Sebagai kontrol digunakan kertas cakram yang ditetesi pelarut metanol 80% dan sebagai pembanding digunakan kertas cakram yang ditetesi Agrept 0,2% (0,002 g/ml metanol). Satu cawan petri diisi dengan 5 kertas cakram dengan konsentrasi 100%, 10%, 1%, 0% dan bakterisida pembanding. Masing-masing perlakuan ditempatkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas penghambatan bakteri diamati dengan mengukur lebar zona penghambatan di sekitar kertas cakram. Prosedur yang sama dilakukan terhadap ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua*.

Mengacu pada Nurnawati (1998), diameter zona penghambatan yang diperoleh dihitung luasnya dengan rumus:

$$L = \frac{\pi}{4} (d^2 - 36) \text{ mm}^2$$

L adalah luas zona penghambatan

d adalah diameter zona penghambatan

$$\pi = 3,14$$

Jumlah jenis dan kadar senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* diidentifikasi dengan kromatografi gas (GC), selanjutnya kelompok yang kadar komponen/senyawanya paling banyak, dalam hal ini minyak atsiri biji *M. fragrans*, diidentifikasi nama-nama senyawanya dengan kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS).

Analisis minyak atsiri dan ekstrak kasar biji pala. Analisis komponen-komponen dalam minyak atsiri dan ekstrak kasar dilakukan dengan metode kromatografi gas (GC). Kondisi operasi pada alat kromatografi gas adalah:

Jenis kolom	: HP5 non polar
Panjang kolom	: 30 meter
Suhu awal kolom	: 120 °C
Waktu awal	: 5 menit
Kenaikan	: 10 °C
Suhu akhir kolom	: 270 °C
Jenis detektor	: FID
Suhu detektor	: 270 °C
Suhu Injektor	: 260 °C
Gas pembawa	: Helium
Total flow	: 10

Split (Kpa)	: 60
Artunation	: 2 ⁴
Kec. kertas	: 1 cm/menit
Jumlah injeksi	: 1 µl

Analisis minyak atsiri biji *M. fragrans*. Jenis-jenis komponen yang teridentifikasi, dianalisis dengan metode kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS) (Mulyani *et al.*, 1990). Kondisi operasi alat kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS) adalah:

Jenis pengion	: EI (Elektron Impack)
Jenis kolom	: DB 1
Panjang kolom	: 30 meter
Suhu kolom	: 60 °C
Waktu awal	: 5 menit
Kenaikan	: 10 °C
Suhu akhir	: 280 °C
Gas pembawa	: Helium
Split (Kpa)	: 80
Suhu Injektor	: 290 °C
Suhu Detektor	: 290 °C

Untuk sistem analisis digunakan spektrometer massa yang ditampilkan dalam bentuk kromatogram. Spektrum massa hasil analisis diidentifikasi dengan cara dibandingkan dengan data yang ada dalam pustaka (Agusta, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat bakteri *X. campestris*

Dari hasil isolasi bakteri pada tanaman brokoli sakit, diperoleh isolat *Xanthomonas campestris* Oammel yang membentuk koloni berwarna kuning, berbentuk bulat, dengan elevasi cembung, dan tepi licin serta mempunyai struktur dalam yang lembut dan rata. Adapun morfologi sel *X. campestris*, yang diamati dengan bantuan pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri ini bersifat Gram negatif, berbentuk batang pendek, berkapsula, dan tidak mempunyai spora (Tabel 1). Hal ini sejalan dengan penelitian Supriadi *et al.* (1997) yang telah mengisolasi bakteri *X. campestris* dari tanaman kapas, dan menyatakan bahwa sel *X. campestris* berbentuk batang pendek, membentuk rantai, dan bersifat Gram negatif. Selanjutnya menurut Jacquelyn (1999) *X. campestris* merupakan bakteri yang berkapsula dan tidak berspora.

Hasil uji katalase menunjukkan bahwa *X. campestris* merupakan bakteri aerob, sehingga menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron. Menurut Fardiaz (1992), oksigen berfungsi sebagai

Tabel 1. Karakteristik bakteri *X. campestris* pada brokoli.

Morfologi koloni					Bentuk Dasar Bakteri	Sifat Pengecatan Gram	Uji Biokimia	
Bentuk	Elevasi	Tepi	Struktur Dalam	Warna			Uji Katalase	Uji Fermentasi
Bulat	Cembung (convex)	Licin	Lembut, rata	Kuning	Batang pendek Berkapsula Tidak berspora	Gram negatif	Positif	Tidak fermentatif

akseptor hidrogen yang mengalami reaksi reduksi oleh dua elektron yang menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2). Selanjutnya menurut Hadioetomo (1993) hidrogen peroksida sesungguhnya bersifat racun dan dapat merusak berbagai gugus fungsi biomolekul. Dari hasil penelitian diketahui, *X. campestris* mampu membentuk gelembung-gelembung oksigen. Hal ini menunjukkan kemampuannya untuk menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen, sehingga tidak bersifat racun.

Sedangkan hasil uji fermentasi terhadap laktosa menunjukkan bahwa *X. campestris* tidak bersifat fermentatif, terbukti dengan tidak terbentuknya gas pada tabung Durham setelah inkubasi pada suhu $37^\circ C$. Hal ini sejalan dengan penelitian Jovanoic *et al.* (1997) yang menyatakan bahwa isolat *X. campestris* dari tanaman kubis mempunyai tipe metabolisme glukosa bersifat oksidatif.

Penghambatan pertumbuhan *X. campestris*

Pengukuran luas zona penghambatan menunjukkan adanya perbedaan penghambatan terhadap *X. campestris* dengan pemberian minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* (Tabel 2.).

Tabel 2. Luas zona penghambatan minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* terhadap *X. campestris* asal tanaman brokoli.

Konsentrasi (%)	<i>M. fragrans</i>		<i>M. fattua</i>	
	minyak atsiri	ekstrak kasar	minyak atsiri	ekstrak kasar
0	0 a	0 a	0 a	0a
1	116,7 b	40,29 a	63,84 a	41,34 a
10	150,45 b	75,36 a	133,70 b	61,75 a
100	401,65 d	235,76 c	221,10 c	73,79 a

Minyak atsiri biji *M. fragrans* mulai konsentrasi 1% sudah menunjukkan aktivitas penghambatan yang nyata terhadap kontrol. Sedangkan pada konsentrasi 10% dan 100% menunjukkan penghambatan yang lebih besar. Minyak atsiri biji *M. fattua* juga menunjukkan aktivitas penghambatan pada semua konsentrasi, tetapi berdasarkan taraf signifikansi DMRT 5%, konsentrasi 1% tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap kontrol. Aktivitas penghambatan yang ditunjukkan pada minyak atsiri biji *M. fattua* efektif pada konsentrasi 10% dan 100%.

Berdasarkan hasil pengukuran luas zona penghambatan, ekstrak kasar biji *M. fragrans* diketahui efektif hanya pada konsentrasi 100%. Pada konsentrasi 10% dan 1%, zona penghambatannya berturut-turut lebih kecil dan tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap kontrol. Ekstrak kasar biji *M. fattua* dalam berbagai konsentrasi kurang efektif menghambat pertumbuhan *X. campestris*. Luas zona penghambatan yang ditunjukkan pada konsentrasi 100%, 10% dan 1%, dengan signifikansi DMRT 5% hasilnya tidak berbeda nyata terhadap kontrol.

Aktivitas substansi antibakteri dari minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* memberikan hasil positif yaitu dengan terbentuknya zona jernih di sekitar kertas cakram. Daya difusi dari substansi antibakteri ke dalam medium agar menentukan penghambatan terhadap bakteri *X. campestris*. Menurut Davidson dan Parish (1989, dalam Djaafar *et al.*, 1996) ukuran zona jernih tergantung pada kecepatan difusi senyawa-senyawa antibakteri pada medium agar, yang mana semakin cepat difusi senyawa-senyawa antibakteri ke dalam medium agar, maka semakin luas zona penghambatan yang terbentuk.

Kandungan kimia

Adanya penghambatan minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* terhadap bakteri *X. campestris* disebabkan aktivitas senyawa-senyawa antibakteri yang terkandung dalam biji tersebut. Hasil analisis kromatografi gas (GC) minyak atsiri dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan *M. fattua* menunjukkan adanya berbagai jenis komponen kimia (data tidak ditunjukkan). Adapun hasil analisis kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS) minyak atsiri biji *M. fragrans* menunjukkan adanya enam senyawa dominan (Tabel 3.).

Tabel 3. Komponen kimia dari minyak atsiri biji *M. fragrans* yang teridentifikasi.

No.	RT	Jenis Senyawa	Area (%)
1.	16,030	miristisin	0,26
2.	18,148	bergamol	0,62
3.	20,067	safrol	1,37
4.	22,857	α -terpineol asetat	0,21
5.	26,030	eugenol	0,27
6.	28,206	metil eugenol	0,26
	Total		6,04*

*) kadar pelarut metanol dan minyak atsiri berkadar rendah 93,06%.

Menurut Praptosuwirya (2001) biji pala memiliki aktivitas bakterisida karena adanya kandungan senyawa miristisin, senyawa hidrokarbon terpena, dan turunan fenilpropana. Hal ini juga diungkapkan oleh Agusta (2000) yang menyatakan bahwa komponen minyak atsiri biji pala antara lain senyawa miristisin dan safrol. Stahl (1985) menyatakan bahwa minyak atsiri biji pala terutama terdiri dari miristisin, safrol, eugenol, isoeugenol, hidrokarbon terpena, dan turunan fenilpropana.

Aktivitas penghambatan yang ditunjukkan oleh minyak atsiri biji *M. fragrans*, minyak atsiri biji *M. fattua*, ekstrak kasar biji *M. fragrans* dan ekstrak kasar biji *M. fattua* dapat disebabkan oleh adanya aktivitas kerja gabungan dari senyawa miristisin, bergamol, safrol, α -terpineol asetat, eugenol, dan metil eugenol yang terdapat di dalamnya, sehingga menunjukkan aktivitas penghambatan yang efektif. Mengacu pada Jawetz *et al.* (1982) aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat lebih efektif dibandingkan dengan daya kerja masing-masing senyawa. Namun dimungkinkan juga, senyawa-senyawa antibakteri yang memiliki

prosentase terbesar dapat mempengaruhi keefektifan daya kerjanya. Di sisi lain aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat juga kurang efektif dibandingkan dengan daya kerja masing-masing senyawa.

Mengacu pada Madigan *et al.* (1997) senyawa antibakteri yang berdifusi ke dalam medium agar dapat menyebabkan terhambatnya pembentukan dinding sel sehingga sel hanya dibatasi oleh membran sel yang tipis dan dapat lisis. Penghambatan juga dapat terjadi pada proses sintesis protein. Menurut Pelczar dan Chan (1988) proses penghambatan terhadap sintesis protein terjadi pada proses transkripsi dan translasi bahan genetik, dimana terjadi kesalahan penerjemahan, sehingga asam amino yang dihasilkan salah menempatkan diri dalam rantai peptida dan menghasilkan protein yang tidak berfungsi.

Penghambatan juga dapat terjadi terhadap enzim yang bekerja dalam sel. Menurut Pelczar dan Chan (1988) enzim merupakan sasaran potensial senyawa antibakteri. Penghambatan ini umumnya bersifat *irreversible* yaitu terjadi perubahan, sehingga enzim menjadi tidak aktif. Dengan terhambatnya atau terhentinya aktivitas enzim, mekanisme kerja enzim dapat terganggu, sehingga mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri.

Dari hasil penelitian, didapatkan bahwa penggunaan bakterisida sintetik yaitu Agrept 0,2% tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan *X. campestris*. Hal ini kemungkinan disebabkan terjadinya resistensi sel bakteri terhadap senyawa kimia tersebut. Mengacu pada Schunack *et al.* (1990) bahwa resistensi alamiah dapat terjadi pada suatu jenis bakteri apabila bakteri tersebut terus menerus dipengaruhi oleh suatu kemoterapeutik tertentu. Bakteri tersebut kemungkinan mampu menginaktivasi zat itu secara enzimatik.

Pada kontrol metanol 80% yang digunakan dalam penelitian ini, tidak menunjukkan aktivitas bakterisida. Mengacu pada Siswandono dan Soekardjo (1995) metanol absolut diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Dalam penelitian ini konsentrasi metanol yang rendah (80%) terbukti tidak menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri, tetapi dalam penerapannya di lapangan masih perlu dicari konsentrasi aman yang tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman.

KESIMPULAN

Minyak atsiri biji *M. fragrans*, minyak atsiri biji *M. fattua* dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *X. campestris*. Minyak atsiri biji *M. fragrans* mulai menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *X. campestris* pada konsentrasi 1%, minyak atsiri biji *M. fattua* mulai konsentrasi 10%, dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* pada konsentrasi 100%. Minyak atsiri biji *M. fragrans* memiliki aktivitas penghambatan tertinggi dibandingkan minyak atsiri biji *M. fattua* dan ekstrak kasar biji *M. fragrans* terhadap pertumbuhan *X. campestris*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: Penerbit ITB.
- Buchanan, R.E and N.E. Gibbons. 1994. *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*. 9th Edition. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.
- Dalimartha, S. 1999. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Davidson, P.M. and M.E. Parish. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology* 1: 148-155.
- Djaafar, T.F., E.S. Rahayu., D. Wibowo, dan S. Sudarmadji. 1996. Substansi antimikroba bakteri asam laktat yang diisolasi dari makanan hasil fermentasi tradisional Indonesia. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 6 (1): 15-21.
- Fardiaz, S. 1993. *Mikrobiologi Bahan Pangan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Jacquelyn, G.B. 1999. *Microbiology Principles and Explorations*. 4th Edition. New Jersey: Prentice Hall. Inc.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, and E.A. Adelberg. 1982. *Mikrobiologi untuk Profesi Kedokteran* Penerjemah: G. Bonang. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Jovanoic, O., D. Antonijevic, and D. Jakovljevic. 1997. *Characteristics of Xanthomonas campestris cv. campestris Isolates Originating from Cabbage Plants*. <http://www.izbizs.co.yu/zastita4.html-11k>.
- Jutono. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi untuk Universitas*. Yogyakarta: UGM Press.
- Kurniawati, I. 1998. *Efektivitas Minyak Atsiri Cengkeh (Eugenia aromatica Kuntze) sebagai Bahan Antimikroba*. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, and Parker. 1997. *Biology of Microorganisms*. 8th Edition. New York: Prentice Hall.
- Mulyani, S., Amini, dan Sumarno. 1990. Analisis GC-MS dan daya antimikroba minyak atsiri temu giring (*Cucurma heyneana* Val. & van Zipj.). *Berkala Penelitian Pasca Sarjana UGM* 3 (1B):-
- Pantastico, E.R.B. 1986. *Fisiologi Pasca Panen Penanganan dan Pemanfaatan Buah-buahan dan Sayur-sayuran Tropika dan Sub Tropika*. Penerjemah: Kamariyani. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Penerjemah: Ratna Siri H, Teja Imas S, S. Sutarni, Sri Lestari A. Jakarta: Penerbit UI.
- Pracaya. 1999. *Hama dan Penyakit Tanaman*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Praptosuwiryo, T. 2001. *Tantangan Pengembangan dan Fakta Jenis Tanaman Rempah*. Bogor: Yayasan Prosea Indonesia.
- Rismunandar. 1992. *Budidaya dan Tataniaga Pala*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Schunack, W., K. Mayer and M. Haake. 1990. *Senyawa Obat*. Edisi Kedua. Penerjemah: L. Wattimenna dan Soebito S. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Supriadi, E.M. Adhi., N. Hasnam, D. Febriyanti, S. Rahayuningsih, and Hasnam. 1997. *Characterization of Isolates of Xanthomonas campestris cv. malvacearum causes Bacterial Blight of Cotton in East Java*. <http://202.159.94.166/publ/ijll-2bl>
- Supriadi., C. Winarti, dan Hernani. 1999. Potensi daya antibakteri beberapa tanaman rempah dan obat terhadap isolat *Ralstonia solanacearum* asal jahe. *Hayati* 6 (2): 43-46.