

Uji Aktivitas Minyak Atsiri Fuli Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Sebagai Anestesi Umum pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Assay Activity of Essential Oil of Mace (*Myristica fragrans* Houtt) As General Anestesiain Gold Fish (*Cyprinus carpio*)

¹Villasentia Dewi Jayanthi Hardian Soleh ²Kiki Mulkiya Y ³Livia Syafnir
^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116
email: ¹villachintya@yahoo.co.id, ²qqmulkiya@gmail.com, ³livia.syafnir@gmail.com

Abstract. The using of chemicals components as an anesthetic can left residu in the fishes bodies and give many negative impact for human who consumes these fishes. Therefore, exploration of natural anesthesia as an alternative is crucial. Pala plants (*Myristica fragrans* Houtt) is one of Indonesia's endemic plants, which contains aromatic compounds such as eugenol, myristicin and safrole. These components can causes hallucination if used in certain concentration. This research is conducted to determine the presence of anesthetic activity of mace by dipping method and also to find an effective doses of *fulii essential oil* contents by doing testing of anesthetic effect with tricain methanesulfonat MS-222 as a comparator. The parameters observed are induction time and duration work length of the sample. Characterization of the essential oil of mace is done by using *Gas Chromatography – Mass Spectrum* (GC-MS) instruments. To strengthen the results, assessments was also analyzed in statistical analysis using pathway analysis. The result of anesthetic effect test with dipping method showed the best doses for common essential oil of mace in concentration 2.7% (v/v) or equivalent to 80 mL of the solution in 3000 mL of water, within 2 minutes 32 seconds of induction time and 7 minutes 5 seconds duration of working. The results of analysis of the essential oil of mace using GC-MS indicates the presence of *Myristicin* compounds that have an anesthetic activity which can be seen from the peaks result.

Keywords: Fish, *Dipping* method, Mace, Essential oil of Mace, Myristisin, GC-MS, Anesthesia

Abstrak. Penggunaan bahan kimia sebagai anestesi dapat meninggalkan residu dalam tubuh ikan dan berdampak negatif pada manusia yang mengkonsumsi. Oleh karena itu, penggunaan bahan anestesi alami dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengatasinya. Tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt) merupakan tumbuhan asli Indonesia, yang mengandung senyawa aromatik berupa *eugenol*, *myristisin* dan *safrole* yang bersifat menimbulkan daya halusinasi apabila digunakan dalam konsentrasi tertentu. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas anestesi dari minyak atsiri fuli pala dengan metode *dipping* dan menemukan dosis terbaik minyak atsiri fuli pala dalam menghasilkan efek anestesi menggunakan metode *dipping* dengan MS-222 sebagai pembanding. Parameter yang diamati adalah waktu induksi dan lama durasi kerja dari sampel yang diuji. Karakterisasi terhadap minyak atsiri fuli pala dilakukan dengan menggunakan instrumen *Gas Chromatography – Mass Spectrum* (GC-MS). Untuk menguatkan hasil pengujian dilakukan analisis secara statistika menggunakan metode analisis jalur (*analysis pathway*). Hasil pengujian efek anestesi dengan metode *dipping* menunjukkan dosis terbaik untuk senyawa uji minyak atsiri fuli pala sebesar 2,7 % v/v atau setara dengan 80 mL larutan uji dalam 3000 mL air, dengan waktu induksi selama 2 menit 32 detik dan durasi kerja selama 7 menit 5 detik. Hasil analisa terhadap minyak atsiri fuli pala menggunakan GC-MS menunjukkan adanya senyawa *Myristicin* yang merupakan senyawa yang memiliki aktivitas anestesi terlihat dari puncak yang dihasilkan.

Kata kunci: Ikan, Metode *dipping*, Fuli pala, Minyak Atsiri Fuli Pala, Myristisin, GC-MS, Anestesi

A. Pendahuluan

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu komoditas perikanan air tawar yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan telah banyak dikembangkan di berbagai daerah serta banyak dikonsumsi oleh masyarakat

(Rudiyanti dan Ekasari, 2009:39). Tingkat kesadaran masyarakat yang semakin tinggi tentang pentingnya mengkonsumsi ikan segar, menyebabkan permintaan ikan atau produk perikanan juga meningkat.

Teknik transportasi ikan hidup

sangat dibutuhkan, sehingga dapat menjamin ikan sampai kepada konsumen dalam keadaan tetap hidup dan mutu yang baik. Sistem transportasi yang dapat digunakan agar hasil perikanan tetap hidup saat di lapangan salah satunya yaitu menggunakan teknik *imotilisasi* (dipingsankan). Pada sistem transportasi ini, ikan dibuat dalam kondisi tenang atau aktivitas respirasi dan metabolismenya rendah sehingga ikan dapat diangkut dalam waktu yang lama dengan derajat kematian kecil (Junianto, 2003:23).

Kelebihan proses anestesi selama transportasi adalah menurunkan tingkat laju konsumsi oksigen dan tingkat laju ekskresi karbondioksida, amoniak dan buangan lain yang bersifat racun serta ikan tidak banyak bergerak selama pengangkutan sehingga memperkecil resiko ikan terluka (Junianto, 2003:56).

Bahan anestesi secara umum terbagi menjadi dua, yaitu bahan anestesi kimia dan alami. Bahan anestesi kimia yang umum digunakan untuk pembiusan ikan adalah *tricaine methanesulfonat* / *MS222* (Prarono, 2002:22), *CO₂* (Hidayah, 1998:89), *metomidate* dan *2-phenoxyethanol* (Coyle et al, 2004:46), *benzocaine* dan *quinaldine* (Sneddon, 2012:32).

Sedangkan bahan-bahan alami yang telah diteliti dan digunakan sebagai bahan anestesi antara lain adalah ekstrak ubi kayu (Habibie 2006:92), minyak cengkeh (ekstrak *eugenol*), *myristisin* (Sneddon, 2012:80), mentol (Saydmohammed, 2009:45) dan ekstrak daun kecubung (Harahap, 2014:403).

Berdasarkan pemaparan di atas maka dapat dirumuskan permasalahan pada penelitian ini, apakah minyak fuli pala memiliki aktivitas sebagai anestetik umum dengan metode *dipping* (perendaman) pada ikan. Berapa dosis efektif minyak fuli pala sebagai anestesi umum pada ikan. Berapa lama durasi

anestesi yang ditimbulkan oleh minyak fuli pala pada ikan yang diujikan dengan metode *dipping*.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji ada tidaknya aktivitas anestesi dari minyak atsiri fuli pala dengan metode *dipping* pada ikan, menentukan dosis efektif untuk anestesi dari minyak fuli pala pada hewan uji dan menentukan berapa lama efek durasi yang ditimbulkan minyak fuli pala terhadap ikan.

Penelitian ini juga bertujuan menghasilkan inovasi dalam pemanfaatan bahan alam terkait dalam bidang anestesi untuk kegiatan pendistribusian ikan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya.

B. Landasan Teori

Tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt) adalah tanaman asli Indonesia yang berasal dari kepulauan Banda dan Maluku (Purseglove et al., 1995:813) yang dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi (Rismunandar, 1990:47). Tanaman pala menghasilkan senyawa golongan alkaloid antara lain seperti *treonin* dan senyawa aromatik seperti *eugenol*, *elemycin*, *myristicin* dan *safrole* (Nurdjanah, 2007:235). Senyawa *myristicin* inilah yang diketahui memiliki aktivitas anestesi dan terkandung lebih banyak pada bagian fuli pala (Agusta, 2000:380-384).

Minyak pala digunakan dalam industri obat-obatan untuk mengurangi flatulensi (kembung perut), meningkatkan daya cerna, mengobati diare dan mual selain itu juga untuk maag, menghentikan muntah, mulas, perut kembung serta obat rematik (Hidayat, 2011: 79). Senyawa aromatik pala *myristicin*, *elimicin*, dan *safrole* sebesar 2-18% yang terdapat pada biji dan bunga pala bersifat merangsang halusinasi (Sunanto, 1993:64). Biji pala

juga digunakan dalam dosis kecil sebagai bumbu masakan daging dan sup, fulinya lebih disukai digunakan dalam penyedap masakan, (Samiran, 2006:68).

Anestesi merupakan suatu keadaan hilangnya rasa atau sensasi tanpa atau disertai dengan hilangnya kesadaran. Keadaan tersebut bersifat sementara dan akan kembali kepada keadaan semula, karena hanya merupakan penekanan kepada fungsi atau aktivitas jaringan syaraf baik lokal maupun umum (Sudisma dkk, 2006).

Hasil dari penelitian sebelumnya mengenai efek dari minyak pala diantaranya adalah penurunan aktivitas lokomotor pada hewan percobaan. Hewan uji berupa mencit diberikan minyak biji pala secara inhalasi dengan dosis 0,1; 0,3 dan 0,5 mL/kandang dan hasilnya hewan percobaan mengalami penurunan aktivitas lokomotor tertinggi sebesar 68,62% dengan pemberian dosis minyak biji pala sebesar 0.5 mL/kandang. (Muchtari, 2010: 477)

Penelitian lainnya yang dilakukan pada hewan invertebrata berupa kerang dan lobster dan diberikan minyak biji pala dengan dosis 1,5; 2,5; 3,5 mL mengalami penurunan aktivitas lokomotor atau adanya relaksasi pada otot. Dosis yang paling efektif pada penelitian ini yaitu 2,5 mL sudah memberikan efek yang diinginkan yaitu penurunan aktivitas lokomotor pada hewan uji (Lumenta, 2012: 192).

C. Metode penelitian

Bahan penelitian tanaman pala dideterminasi, kemudian bagian fuli tanaman pala yang didapatkan dari petani pala diproses menjadi simplisia, kemudian dikarakterisasi dengan penetapan parameter spesifik dan non spesifik. Selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia, didestilasi, dianalisis kualitas berdasarkan SNI dan dianalisis komponen minyak fuli pala, kemudian diuji aktivitas anestesi terhadap hewan uji berupa ikan

mas.

Bahan penelitian berupa fuli dari tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt) didapatkan dari petani tanaman pala yang berada di daerah Sukabumi Jawa Barat tepatnya di Kecamatan Cimanggu Kabupaten Jawa barat. Selanjutnya dilakukan proses determinasi tanaman pala di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor untuk mengetahui kebenaran jenis bahan. Bagian fuli yang telah diperoleh kemudian disortasi basah dan dibersihkan, dikeringkan dan disortasi kering untuk memisahkan bahan-bahan yang rusak atau gosong (mutu). Tahapan selanjutnya dilakukan karakterisasi simplisia pada serbuk fuli yang telah dikeringkan.

Simplisia fuli pala selanjutnya dikarakterisasi dengan penetapan parameter standar simplisia yang dilakukan di Laboratorium Riset Kampus Unisba Rangga gading yang meliputi parameter spesifik dan non spesifik berupa pemeriksaan ciri makroskopik dan mikroskopik, kadar sari larut air dan kadar air larut etanol, kadar air, susut pengeringan, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam.

Kemudian dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, terpenoid dan steroid, monoterpen dan seskuiterpen, saponin, antrakuinon dan tanin.

Tahapan selanjutnya simplisia fuli pala didestilasi dengan menggunakan metode destilasi uap air (pengukusan) untuk mendapatkan minyak atsiri dari fuli pala, serta dilakukan analisis kualitas berdasarkan SNI dari minyak fuli pala yang sudah didapatkan, yang keduanya dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Bogor.

Kemudian tahap selanjutnya dilakukan analisis komponen minyak fuli pala dengan menggunakan metode *Gas*

Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) yang dilakukan di Poltekes Bandung. Analisis komponen diawali dengan menentukan kondisi optimum sistem kromatografi gas meliputi suhu injektor, suhu kolom, detektor dan suhu detektor serta melakukan verifikasi alat dan senyawa yang akan dianalisis.

Tahapan selanjutnya adalah pengujian aktivitas anestesi dengan metode *dipping* yang dilakukan di Laboratorium hewan Kampus Unisba Rangka malela lantai 3 yaitu dengan menambahkan minyak atsiri ke dalam air yang berisi ikan sampai terlihat adanya aktivitas anestesi terhadap hewan uji dengan ciri-ciri hilangnya *imobilitas* dan juga dilihat ciri-ciri *overculum* ikan. Kemudian dilakukan perhitungan analisis statistik untuk mendapatkan karakter aktivitas anestesi minyak fuli pala sebagai bahan anestesi terhadap hewan uji berupa ikan.

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan Penapisan fitokimia

Tabel V.4. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia Fuli Pala

No	Nama Senyawa	Hasil/ Keterangan
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Polidifenol	+
4	Monoterpen & Seskuitrpen	+
5	Saponin	-
6	Antrakuinon	-
7	Tanin	-
8	Triterpen & Steroid	-

Keterangan : + = Terdeteksi
- = Tidak terdeteksi

Proses Pembuatan Minyak Atsiri Fuli Pala

Dari proses destilasi dengan metode destilasi uap dan air, minyak atsiri yang diperoleh dari 7 kg fuli pala kering sebanyak 1500 mL atau 1,5 L sehingga rendemen minyak atsiri fuli pala yang didapatkan sebesar 17,14 %. Rendemen tersebut memenuhi standar, dimana fuli

pala menghasilkan minyak atsiri dengan persentase 7 – 18% (Balai Penelitian Rempah dan Obat, 2015: 5).

Karakterisasi Minyak Atsiri Fuli Pala

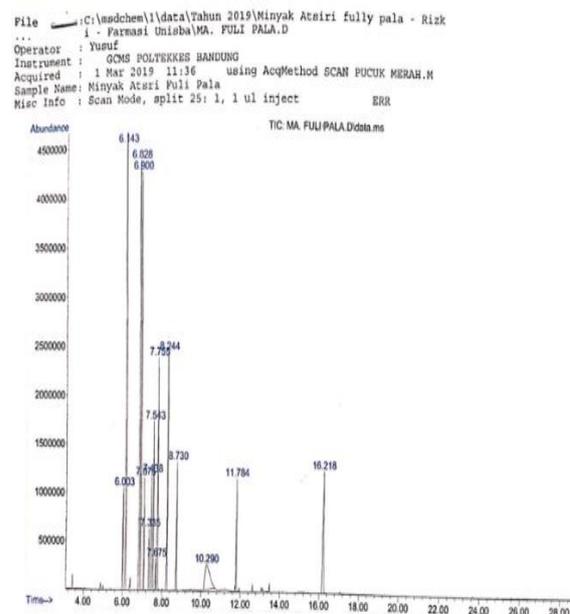
Karakterisasi minyak atsiri fuli pala ini dilakukan di BALITTRO (Balai Penelitian Rempah dan Obat), hasil pengujian dapat dilihat pada **Tabel V.6**

Tabel V.6. Hasil Karakterisasi Minyak Atsiri Fuli Pala

No	Jenis Pengujian	Hasil Pengujian	SNI Minyak pala
1	Warna	Kuning Pucat	Tidak Berwarna - Kuning Pucat
2	Bau	Khas	Khas
3	Indeks Bias 20 °C	1,471	1,470-1,497
4	Berat Jenis 20 °C	0,8625	0,880-0,910
5	Putaran Optik	22,15°	(+) ⁸ - (+) ²⁵
6	Kelarutan dalam Ethanol 90%	1:5 (Larut)	1:3 Jernih
7	Myristisin %	6,976	Min 10%

Dari hasil pengujian karakterisasi minyak atsiri fuli pala yang telah dilakukan hasil tersebut memenuhi syarat SNI untuk minyak fuli pala seperti yang terdapat pada SNI 06-2388-2006.

Analisis komponen minyak fuli pala



Gambar V.7a: Kromatogram GC minyak fuli pala (*Myristica fragrans*)

Tabel V.7.2 Komponen Minyak Fuli Pala (*Myristica fra grans* Houtt)

No	Waktu retensi	Nama komponen	% area
1	6,003	Bicycly [3.1.0] haxane	2,622
2	6,143	α -pinene	17,764
3	6,828	Sabinene	17,051
4	6,900	2- β -pinene	14,886
5	7,076	β -myrcene	2,684
6	7,335	1-Phellandrene	1,578
7	7,438	3-Carene	2,911
8	7,543	α -Terpinen	4,184
9	7,675	1-Methylethyl	0,845
10	7,755	Limonen	8,277
11	8,244	γ -Terpinen	6,315
12	8,730	α -Terpinolene	3,306
13	10,290	3-Cyclohexen-1-ol	7,573
14	11,784	1,3-Benzodioxole	3,037
15	16,218	Myristicin	6,967

Dari hasil analisis komponen minyak fuli pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang dengan GC-MS menghasilkan 15 puncak komponen. Komponen-komponen tersebut terdiri dari *monoterpene hydrocarbon*, *monoterpene alcohols*, *aromatic monoterpene* dan *aromatic ether*. Beberapa komponen utama dari monoterpen hidrokarbon yaitu α -pinene (17,764%), sabinene (17,051%), β -pinene (14,886%), γ -terpinen (6,315%) dan α -terpinen (4,184%). Komponen utama monoterpen alkohol adalah α -terpinolen (3,306%), untuk monoterpen aromatis yaitu limonen (8,277%). Sedangkan komponen utama eter aromatis yang menunjukkan kualitas dari minyak fuli pala terdiri dari myristicin (6,967%). Untuk spektrogram massa senyawa puncak 15 yang memiliki kemiripan 96,7% dengan spectrogram senyawa dari data *Library GC-MS* merupakan spektrogram dari senyawa myristicin ($C_{11}H_{12}O_3$) yang memiliki pola fragmentasi m/e: 192;91;165;65;11.

Perbedaan intensitas dan beberapa komponen aroma pada seluruh sampel minyak fuli pala ini terjadi karena faktor perbedaan tempat tumbuh. Reineceius (1994), mengatakan bahwa minyak atsiri yang memberikan aroma spesifik pada tanaman terdiri dari campuran komponen organik yang terbentuk

secara alami dengan jumlah yang relatif dan juga tergantung dari spesies dan faktor *agricultural*.

Pengujian Aktivitas Anestesi

Hasil pengujian terhadap senyawa uji minyak atsiri biji pala dapat dilihat pada **Tabel V.8.1**.

Tabel V.8.1 Hasil pengujian aktivitas anestesi minyak fuli pala *crude* dan pembanding terhadap hewan uji ikan mas

Dosis	Hewan	onset / waktu induksi (menit)	recovery / waktu pemulihan (menit)
2,3V%	1	4:35	7:10
	2	4:04	7:05
	3	5:00	7:15
2,5V%	1	4:20	7:45
	2	4:10	7:50
	3	4:03	7:56
2,7V%	1	2:30	9:15
	2	2:35	9:30
	3	2:32	9:37
Pembanding 5mL	1	1:03	3:14
	2	1:08	3:10
	3	1:12	3:12

Berdasarkan hasil yang di dapatkan seperti tabel di atas terdapat perbedaan terhadap hasil pengujian dari berbagai konsentrasi. Dengan adanya variasi dosis berpengaruh terhadap waktu induksi dan durasi kerja (waktu hilangnya kesadaran). Semakin tinggi dosis yang diberikan maka waktu induksi akan semakin singkat dan semakin tinggi dosis yang diberikan durasi kerja dari senyawa uji akan semakin lama sehingga dosis yang efektif pada pengujian ini yaitu pada konsentrasi 2,7 V% karena menghasilkan durasi untuk menganestesi hewan uji yang lebih lama dari pembanding.

Ada pun faktor – faktor yang mungkin dapat berpotensi sehingga menjadikan pembeda terhadap hasil pengujian yaitu metabolisme individu hewan uji, komponen lipid dalam tubuh dari setiap individu hewan uji yang

berbeda-beda. Ikan yang memiliki kandungan lemak lebih besar akan memiliki waktu onset (hilangnya kesadaran) yang pendek atau bisa dikatakan lebih cepat jangka waktu untuk teranestesi (*recovery*). *Recovery* dimulai ketika stadium anestesi berakhir dan konsentrasi anestetikum di otak mulai berkurang (Mckelvey dan Wayne, 2003). Perubahan tingkah laku ikan pada proses pingsannya ikan mas dengan sampel uji.

Salah satu parameter utama untuk mengetahui waktu onset suatu sediaan anestetikum adalah hilangnya beberapa refleks (Mckelvey dan Wayne, 2003). Tahapan pingsan atau hilangnya beberapa refleks ikan mas dapat dilihat pada **Table V.8.2** menurut Bowser (2001) pada saat ikan mas kehilangan refleks maka ikan mas masuk pada tahap kehilangan refleks dengan ciri-ciri kehilangan sadar total, kecepatan *overculum* sangat lambat dan kehilangan refleks. Gambar ikan yang teranestesi dapat ditunjukkan pada **Gambar V.8**.



Gambar V.8 gambar hewan uji mengalami Anestesi

Tabel V.8.2 Tahapan anestesi ikan (Bowser, 2001:57)

Tahapan	Deskripsi	Gejala
0	Normal	Kesadaran ada; opercular rate dan otot normal
1	Awal sadasi	Mulai kehilangan kesadaran; opercular rate sedikit menurun; keseimbangan normal
2	Sadasi total	Kehilangan kesadaran total; penurunan opercular rate; keseimbangan menurun
3	Kehilangan sebagian keseimbangan	Sebagian Otot mulai relaksasi; berenang tidak teratur; peningkatan opercular rate; Bereaksi hanya ketika ada tactile yang kuat dan rangsangan getaran
4	Kehilangan keseimbangan total	Kehilangan keseimbangan dan otot secara total; lambat tetapi teratur opercular rate; kehilangan refleks spinal
5	Kehilangan reflex	Kehilangan kesadaran total; opercular lambat dan tidak teratur; denyut jantung sangat lambat; kehilangan refleks
6	Medulla kolaps (stadium asphyxia)	Opercular berhenti bergerak; jantung menahan biasanya diikuti dengan gerakan cepat.

Tanda-tanda pulih kembali menurut Mckelvey dan Wayne (2003) antara lain, refleks otot dan rasa nyeri telah pulih kembali dan hewan mulai sadar. Hal ini terlihat jelas pada ikan mas yang kembali sadar setelah beberapa menit dipindahkan kedalam air tanpa larutan uji. Tubuh ikan kembali seimbang, terlihat berenang kembali aktif, ikan merespon saat diberi rangsangan, hal

tersebut berarti refleksi ikan telah pulih kembali setelah efek anestesi yang diberikan hilang.

Validasi Analisis Statistik

Dari senyawa - senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri fuli pala beberapa memiliki aktivitas sebagai anestesi seperti elemisin, beta-pinen dan myristisin sehingga senyawa minyak atsiri fuli pala memiliki potensi sebagai anestesi umum jika digunakan dalam bentuk *crude* atau utuh. Pernyataan tersebut juga di dukung oleh hasil analisa statistik yang menyatakan bahwa signifikansi yang ditimbulkan oleh minyak atsiri fuli pala cukup kuat yaitu 0,000 dan hubungan korelasi antara dosis, onset dan durasi memiliki $R^2 \pm 1 / =1$ atau dengan kata lain memiliki signifikansi yang kuat.

E. Kesimpulan

Minyak atsiri fuli pala (*Myristicae fragrans* Houtt) mempunyai potensi yang cukup kuat sebagai anestesi umum terhadap ikan mas (*Cyprinus carpio*), dengan parameter berupa waktu induksi dan durasi kerja. Dosis efektif yang diberikan sebesar 2,7% v/v (80 mL dalam 3000 mL)/ 200 gram BB ikan mempunyai aktivitas anestesi umum yang terbaik, berdasarkan parameter waktu induksi tersingkat dan durasi kerja yang cukup lama. Secara statistik, terdapat korelasi dan kontribusi yang signifikan antara dosis pemberian dan waktu induksi maupun durasi kerja. Dengan demikian minyak atsiri fuli pala (*Myristicae fragrans* Houtt) dengan dosis tersebut dapat menjadi senyawa bahan alam yang berpotensi kuat sebagai anestesi umum. Terdapat 15 komponen yang terkandung dalam minyak atsiri fuli pala yang salah satunya senyawa Myristisin yang berpotensi sebagai anestesi. Didapat durasi aktivitas anestesi dari minyak fuli pala sebesar 7 menit 5 detik.

F. Saran

Pada penelitian selanjutnya diharapkan untuk melakukan pengujian lebih lanjut dibidang farmakologi untuk memastikan keamanan. Serta simplisia pala baik yang tanpa biji atau buahnya yang digunakan untuk didestilasi dan diambil minyak atsirinya tidak terlalu lama pada masa penyimpanannya, untuk menghindari berkurangnya rendemen minyak atsiri dan penurunan kualitas senyawa marker dari simplisia fuli pala penurunan kualitas.

Daftar Pustaka

- Agusta, A. 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia. Bandung : ITB Press.
- Badan Standar Nasional. 2006. SNI 06-2388-2006 Minyak Pala (*Myristica fragrans* Houtt). Jakarta: Badan Standarisasi Nasional. Hal 1-8.
- Bowser PR. 2001. Anesthetic Option for Fish. America: Blackwell Publishing.
- Coyle SD, Robert MD, James HT. 2004. Anesthetics in aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center No. 3900.
- Habibie, M.A. 2006. Pengujian ekstrak ubi kayu (*Manihot esculata*) sebagai bahan anestesi pada transportasi udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) hidup tanpa media air. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Harahap HF. 2014. Teknik imotilisasi ikan mas (*Cyprinus carpio*) menggunakan ekstrak daun kecubung (*Datura metel* L) [skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Hidayah. 1998. Studi penggunaan gas CO₂ sebagai bahan pembius

- untuk transportasi ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) [skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Hidayat. 1968. Penentuan kadar minyak atsiri daun sirih (*Piper betle*) segar dan kering [skripsi]. Bandung (ID): Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung.
- Junianto. 2003. Teknik Penanganan Ikan. Jakarta(ID): Penebar Swadaya.
- Lumenta,C., dan Gaybert,M. 2012. Efektivitas Pemberian Beberapa Jenis Dan Dosis Bahan Anestesi Prakondisi Kerang (*Anodonta woodiana*).Vol 14.ISSN 1411-0903.
- Mckelvey D, Wayne K. 2003. Veterinary anesthesia and analgesia. Amerika: occation the veterinarian.
- Muchtaridi.,dkk. 2010. Indentification of Compounds in the Essential Oil of Nutmeg Seeds (*Myristica Fragrans* Houtt). That Inhibit Locomotor Activity in Mice.ISSN 1422-0067
- Nurdjanah N. 2007. Teknologi Pengolahan Pala. Badan Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Departemen Pertanian.
- Pramono V. 2002. Penggunaan ekstrak *Caulerpa racemosa* sebagai bahan pembius pada pra transportasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) hidup [skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Purseglove JW, EG Brown, SL Green, and SR Robbins. 1995. Spices. Longmans, New York.813p.
- Reineccius, 1994, Source Book of Flavors, Chapman and Hall, New York
- Rismunandar. 1990. Budidaya dan Tataniaga Pala. Cetakan kedua. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rudiyanti, S. dan A. D. Ekasari. 2009. Pertumbuhan dan survival rate ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn) pada berbagai konsentrasi pestisida regent 0,3. Jurnal Saintek Perikanan. 5(1): 39 – 4.
- Samiran, 2006 . Cara Alami Mengundang Kantuk. Majalah Intisari. Edisi No.517
- Saydmohammed M, Pal AS. 2009. Anesthetic effect of eugenol and menthol on handling stress in *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Aquaculture. Sunanto, H. (1993). Aren Budidaya dan Multigunanya. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Sneddon L. U. 2012. Clinical anesthesia and analgesia in fish – review. Exotic Pet Medicine. 21 : 32 – 43.
- Sudisma, I.G.N., I.G.A.G. Putra Pemayun, A.A.G. Jaya Warditha, I.W. Gorda. 2006. Ilmu Bedah Veteriner dan Teknik Operasi. Pelawa Sari. Denpasar.
- Sunanto, H. 1993. Aren Budidaya dan Multigunanya. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.