

# Uji Daya Antibakteri Ekstrak Biji Pala *Myristica fragans houtt* Varietas Tidore 1 terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* dan *Escherichia coli* secara In Vitro serta Analisis Kandungan beberapa Senyawa Aktif Antibakteri

Nursyahbani Saraha<sup>1\*</sup>, Utami Sri Hastuti<sup>1</sup>, Betty Lukiati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Negeri Malang

\*E-mail: Nursaraha999@gmail.com

---

**Abstrak.** Diare merupakan salah satu penyakit saluran pencernaan makanan yang sering menimbulkan masalah yang terjadi di masyarakat Tidore. Penyakit tersebut disebabkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Biji pala dapat digunakan untuk mengobati penyakit diare. Senyawa antibakteri yang terkandung dalam biji pala adalah: flavonoid, tanin, alkaloid, fenolat, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak biji pala Tidore 1 dalam beberapa macam konsentrasi terhadap penghambatan pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, menentukan konsentrasi ekstrak biji pala yang paling efektif terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, serta menganalisis kandungan beberapa senyawa antibakteri dalam biji pala Tidore 1. dengan konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu: 1%, 3%, 5%, 7%, dan 9% dengan pelarut aquades steril. Hasil penelitian menunjukkan Konsentrasi ekstrak biji pala 7% merupakan konsentrasi yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan konsentrasi ekstrak biji pala 5% merupakan konsentrasi yang paling efektif menghambat bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci: Biji pala Tidore 1; daya hambat pertumbuhan; *Bacillus subtilis*; *Escherichia coli*.

**Abstract.** Diarrhea is a sort of digestive system disease that oftenly cause a problem in Tidore people. This caused by *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. Nutmeg seed can be use a diarrhea medicine. Some nutmeg seed antibacterial active compounds are: flavonoid, tannin, alkaloid, phenolat, and terpenoid. This research was done to examine the nutmeg var.Tidore 1 seed extract in some concentration effect to the growth inhibition of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* and determine the most effective concentration of the nutmeg seed in the growth inhibition of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*, analize some antibacterial compound content in the nutmeg seed var.Tidore 1. The extract was diluted in some concentration, i.e :1%, 3%, 5%, 7%, and 9% in distilled water. The research result shows The concentration level of 7% is the most *Bacillus subtilis*, while the concentration level of 5% is the most effective concentration for the growth inhibition of *Escherichia coli*.

Keywords: Seed of Nutmeg Varieties Tidore 1; Growth Inhibition; *Bacillus subtilis*; *Escherichia coli*

---

## PENDAHULUAN

Diare merupakan salah satu penyakit saluran pencernaan makanan yang sering menimbulkan masalah yang terjadi di masyarakat Tidore. Diare adalah pengeluaran tinja yang ditandai dengan peningkatan kadar air, volume, atau frekuensi tinja, Diare akut adalah diare dengan durasi kurang dari 14 hari (Guerrant et al., 2001). Seorang penderita diare dapat mengalami sakit perut, demam bahkan kehilangan banyak cairan dalam tubuh sehingga dapat terjadi berbagai macam komplikasi,

salah satu diantaranya yaitu dehidrasi. Faktor resiko yang menjadi penyebab penularan penyakit diare ialah faktor lingkungan, yang meliputi sarana air bersih (SAB), sanitasi lingkungan, jamban, kualitas bakterologis air, saluran pembuangan air limbah (SPAL) dan kondisi rumah (Adisasmito., 2007).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri penyebab diare pada pencernaan manusia. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare, mekanisme patogenesis berlangsung melalui enterotoksin yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* dan infeksi pada mukosa (Muttaqin et al., 2015). Bakteri lainnya yang menyebabkan infeksi pada kulit adalah *Bacillus subtilis*, bakteri *Bacillus subtilis* menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks (Pelczar et al. 1976).

Penderita diare umumnya diterapi menggunakan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan mematikan bakteri. Salah satu zat antibakteri yang banyak dipergunakan adalah kloramfenikol. Kloramfenikol adalah Antibiotik spektrum luas yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri dan kuman anaerob (Rianto & Loecke, 1995). Kloramfenikol merupakan salah satu jenis antibiotik yang sering digunakan untuk penyakit diare. Mekanisme kerja antibiotik antara lain adalah menghambat sintesis dinding sel, merusak permeabilitas membran sel, menghambat sintesis RNA dan menghambat sintesis protein (Pelzar et al., 2005). penggunaan antibiotik jangka panjang dapat memberikan efek, yaitu bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik tersebut, resistensi antibiotik menyebabkan kegagalan dalam pengobatan penyakit akibat infeksi, sehingga diperlukan pencarian bahan alami sebagai alternatif pengobatan

Biji pala berpotensi sebagai bahan antibakteri, karena biji pala mengandung senyawa fenol, terpenoid, flavonoid, yang berpotensi sebagai antibakteri (Rumopa et al., 2016) Kandungan beberapa macam senyawa aktif antibakteri dalam tanaman pala mendasari alasan penggunaan buah pala sebagai bahan alami antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pala Tidore 1 merupakan tanaman endemik yang mulai langka karena hanya terdapat di daerah puncak gunung kepulauan Tidore, yang sulit dijangkau. Maka perlu upaya melalui penelitian untuk memperoleh info yang diperluka tentang daya antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak biji pala.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji daya antibakteri ekstrak biji pala terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, serta untuk menganalisis kandungan senyawa metabolik tumbuhan pala Tidore 1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan masyarakat kemanfaatan biji pala dalam bidang kesehatan.

## **MATERIAL DAN METODE**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan, 3 ulangan. Macam perlakuan konsentrasi

ekstrak etanol biji pala 1% (P1), 3% (P2), 5% (P3), 7% (P4), 9% (P5), dan kontrol positif dengan kloramfenikol (P6), serta kontrol negatif menggunakan aquades (P7). Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: beaker glass, blender, pipet tetes, rotary evaporator, oven kering, incubator, beaker glass, cawan petri, tabung reaksi, macropipet, kompor LPG, autoklaf, gelas ukur, jangka sorong, neraca analitik, micropepet, lampu spiritus, rak tabung, bor gabus, jarum inokulasi, cotton bud dan LAF. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : biji pala varietas Tidore 1, etanol 96%, aquades, kapas, cotton bud, aluminium foil, kertas sampul, medium NA, medium NC, larutan Mac Farlan.

### **Ekstraksi Biji Pala**

Biji pala dibersihkan dan dicuci dengan air bersih, biji pala kering sebanyak 700 gram direndam dalam 3500 mL etanol 95% selama 3 x 24 jam sambil digoyang pada *shaker*, selanjutnya disaring. Filtrat cair yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40<sup>o</sup> C sampai diperoleh ekstrak kental.

### **Identifikasi kandungan senyawa**

Kandungan senyawa bioaktif dalam biji pala diidentifikasi dengan menggunakan LCMS.

### **Sterilisasi**

Alat yang digunakan disterilisasikan ke dalam oven kering dengan suhu 150<sup>o</sup>C selama 2 jam, sedangkan bahan yang digunakan yaitu medium NA dan medium NC menggunakan otoklaf pada suhu 121<sup>o</sup>C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit

### **Pembuatan Medium NA**

bahan yang digunakan untuk pembuatan medium NA yaitu *Beef extract* 3 gram, Pepton 5 gram, Serbuk agar 20 gram, *Aquades* 1000 ml, Semua bahan tersebut dimasukan dan dicampur ke dalam gelas beker 1000 ml, dipanaskan sampai homogen lalu dituangkan kedalam cawan petri dan medium miring, lalu dimasukkan ke dalam otoklaf untuk disterilisasikan selama 15 menit pada suhu 15 lbs dan tekanan 121<sup>o</sup>C.

### **Pembuatan Medium NC**

bahan yang digunakan untuk pembuatan medium NC yaitu *Beef ekstrak* 3 gram, Pepton 5 gram, *Aquades* 1000 ml, Medium NC digunakan untuk membiakan *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* 1x18 jam sebelum penginokulasian.

### **Membuat konsentrasi bakteri menyamakan dengan McFarland**

Pengoresan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* menggunakan jarum inokulasi, yang telah diambil dibiakkan pada medium NC, selanjutnya bakteri diinkubasi selama 18 jam, setelah itu membandingkan kekeruhan biakan murni bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* dalam tabung reaksi dengan larutan McFarland 0,5 untuk menentukan lama waktu inkubasi yang tepat.

### **Uji antibakteri ekstrak biji pala Tidore 1 terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Bacillus subtilis***

Pengujian Bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Bacillus subtilis* diperbanyak pada medium NA miring dengan cara mencelupkan ujung cotton bud steril ke dalam biakan urni bakteri dalam medium nutrient cair, diinokulasi bakteri secara aseptik dengan jarum inokulasi pada permukaan media miring dengan arah zig zag pada permukaan lalu membuat lubang sumuran pada medium lempeng NA dengan menggunakan bor gabus steril, masing-masing medium lempeng NA diberi kode sesuai konsentrasi perlakuan, lalu teteskan larutan ekstrak biji pala pada lubang sumuran menggunakan pipet tetes steril pengikubasion medium perlakuan ini pada suhu 37C selama 1x24 jam

#### **Pengumpulan Data**

Data pertumbuhan bakteri diperoleh dengan cara mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*

#### **Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan dengan metode *Analisis of Varians* (ANOVA) dengan taraf signifikasi 5% yang dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan

### **HASIL**

#### **Hasil Pengaruh Ekstrak biji pala terhadap Penghambatan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.**

Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

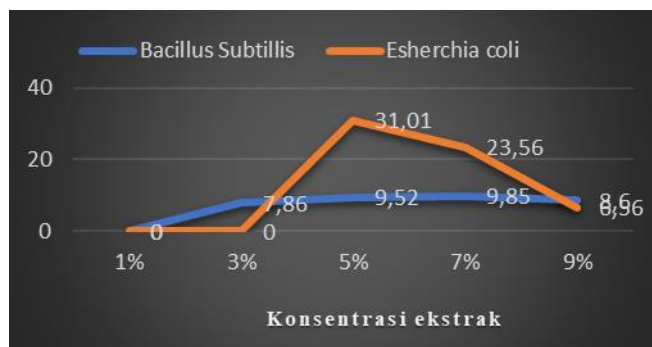
Berdasarkan pada Tabel 1 diketahui bahwa daya hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* yang diperlakukan dengan ekstrak ekstrak biji pala dalam beberapa macam konsentrasi menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Perlakuan dengan ekstrak biji pala Tidore 1 pada konsentrasi 5% baik terhadap *Bacillus subtilis* maupun *Escherichia coli* menunjukkan adanya zona hambat pertumbuhan. Ukuran zona hambat pertumbuhan baik pada *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* meningkat seiring dengan peningkatan sampai dengan konsentrasi 7%, kemudian menurun pada konsentrasi 9%.

**Tabel 1. Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* pada Media NA yang Diberi Ekstrak biji pala Tidore 1**

Jenis bakteri	Perlakuan dengan ekstrak biji pala	Diameter Zona hambat pertumbuhan (mm) ulangan ke-			$\Sigma$	Rata-rata
		I	II	III		
A	P1	0	0	0	0	0
	P2	9,28	7,65	6,65	23,58	7.86
	P3	9,75	8,97	9,85	28,39	9.5233
	P4	12,35	7,65	9,57	29,57	9.8567
	P5	7,12	9,75	8,95	25,82	8.6067
	P+	44,35	42,3	42,95	129,6	43.2
	P-	0	0	0	0	
	B	P1	0	0	0	0
P2		0	0	0	0	0
P3		32,15	31,25	29,65	93,05	31.0167
P4		29,05	19,15	22,5	70,7	23.5667
P5		7,85	2,6	9,25	19,7	6.5667
P+		33,05	27,55	32,65	93,25	31.0833
P-		0	0	0	0	0

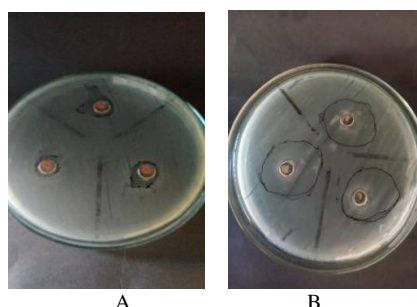
Keterangan : A: *Bacillus Subtilis* B: *E. coli*, P1: konsentrasi ekstrak 1%, P2: konsentrasi ekstrak 3%, P3: konsentrasi ekstrak 5%, P4: konsentrasi ekstrak 7%, P5: konsentrasi ekstrak 9%, P+: control positif dengan kloramfenikol, P-: kontrol negatif dengan aquades.

Diameter zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* maupun *Escherichia coli* yang diperlakukan dengan kloramphenicol sebagai kontrol positif membuktikan kloramphenicol efektif menghambat pertumbuhan kedua spesies bakteri uji dengan daya hambat yang berbeda. Adapun aquades steril yang berfungsi sebagai kontrol negatif telah terbukti tidak menghasilkan zona hambat pertumbuhan, baik pada *Bacillus subtilis* maupun *Escherichia coli*, hal ini menunjukkan bahwa aquades steril tidak dapat menghambat pertumbuhan kedua spesies bakteri.



**Gambar 1. Grafik Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pala Terhadap Pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli***

Keterangan: Grafik menunjukan bahwa konsentrai ekstrak 5% paling efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan ekstrak 7% paling efektif menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*



**Gambar 2. Hasil Daya hambat Konsentrasi Ekstrak biji pala terhadap Penghambatan Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli***

Keterangan : Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak pala Tidore 1 terhadap bakteri. A= Bacilus subtilis 7 %, B = Escherichia coli 5%

Daya hambat pertumbuhan terhadap *Bacillus subtilis* tertinggi ialah pada konsentrasi ekstrak biji pala 7% yaitu 9,85 mm sedangkan terhadap *Escherichia coli* daya hambat pertumbuhan tertinggi ialah pada konsentrasi 5% yaitu 31,01 mm. maka diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* terbukti lebih besar dibandingkan dengan diameter zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*.

**Tabel 2. Ringkasan ANAVA tentang Pengaruh Konsentrasi Ekstrak biji pala terhadap Penghambatan Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli***

Variasi sumber	JT	db	KT	F	Sig
Antar kelompok	6815.765	11	619.615	125.71	0
Dalam kelompok	118.294	24	4.929		
Total	6934.059	35			

Keterangan db = derajat bebas, JK = jumlah kuadrat, KT = kuadrat tengah

Tabel 2 menunjukkan pengaruh yang nyata (signifikan) bahwa  $F_{hitung} = 125,710$  dengan tingkat signifikansi/probabilitas  $0,00 < 0,05$ , maka hipotesis diterima, artinya ada perbedaan pengaruh signifikan ekstrak biji pala Tidore 1 terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Analisis dilanjutkan uji Duncan, untuk mengetahui konsentrasi ekstrak biji pala yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Hasil uji lanjut Duncan tentang diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* yang diperlakukan dengan ekstrak biji pala ditunjukkan pada Tabel 3.

**Tabel 3. Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* yang diperlakukan dengan Ekstrak biji pala pada Berbagai Macam Konsentrasi.**

Perlakuan	Notasi				
	1	2	3	4	5
AP1 1%	a				
BP1 1%	a				
BP1 3%	a				
BP1 9%		b			
AP1 3%		b			
AP1 9%		b			
AP1 5%		b			
AP1 7%		b			
BP1 7%			c		
BP1 5%				d	
PE+				d	
PE-					e

Keterangan : A: *Bacillus subtilis*, B: *E. coli*, P1: konsentrasi ekstrak 1%, P2: konsentrasi ekstrak 3%, P3: konsentrasi ekstrak 5%, P4: konsentrasi ekstrak 7%, P5: konsentrasi ekstrak 9%, P+: control positif dengan kloramfenikol, P-: kontrol negatif dengan aquades

Tabel 3. membuktikan bahwa zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* yang dilakukan dengan ekstrak biji pala Tidore 1 pada berbagai macam konsentrasi menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada setiap perlakuan. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji pala Tidore 1, maka semakin meningkat pula daya hambat menunjukkan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi terhadap penghambatan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* oleh ekstrak biji pala Tidore 1, yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat pertumbuhan berupa daerah jernih di sekitar lubang sumuran pada

medium. Daerah jernih tersebut menunjukkan bahwa sel-sel bakteri uji terhambat pertumbuhannya akibat pengaruh senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam ekstrak biji pala Tidore 1. Konsentrasi ekstrak biji pala 7% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, hal ini ditunjukkan oleh diameter zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* sebesar 9,53 mm dan Konsentrasi ekstrak biji pala 5% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, dengan zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar 31,01 mm

Berdasarkan analisis senyawa kimia, menunjukkan bahwa biji pala yang juga dimanfaatkan untuk obat diketahui mengandung senyawa-senyawa antibakteri, antara lain flavonoid, alkaloid, tanin, fenolat dan terpenoid. Alkaloid bersifat antibakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis komponen-komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga sel tidak mempunyai pelindung dan rentan mengalami kerusakan (Kaawoan et al., 2016). Flavonoid memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan cara berikatan pada lemak penyusun dinding sel bakteri, hal ini menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri, selanjutnya kerusakan juga terjadi pada membran sel bakteri, karena membran sel tidak mempunyai pelindung lagi. (Jawetz et al., 2005).

Senyawa antibakteri dapat merusak beberapa bagian salah satunya dinding sel. Apabila dinding sel rusak, maka membran sel mengalami kerusakan karena tidak memiliki pelindung. Selanjutnya sifat semipermeabel membran sel akan menurun menyebabkan nutrisi dalam sitoplasma keluar dari sel. Hal ini menyebabkan metabolisme terhambat sehingga tidak dihasilkan energi berupa ATP, selanjutnya terjadi hambatan pertumbuhan sel bakteri uji yang ditunjukkan dengan terjadinya zona jernih.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, kesimpulan penelitian ini yaitu Variasi konsentrasi ekstrak biji pala Tidore 1 berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* serta Terdapat perbedaan pengaruh konsentrasi ekstrak bagian biji pala Tidore 1 terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, konsentrasi ekstrak biji pala 7% merupakan konsentrasi yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan konsentrasi ekstrak biji pala 5% merupakan konsentrasi paling efektif menghambat bakteri *Escherichia coli* dan Kandungan beberapa senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak biji pala Tidore 1 yaitu, senyawa flavonoid sebesar 24,619 mm, tanin sebesar 7,792 mm, alkaloid sebesar 1,576 mm, fenolat sebesar 35,535 mm dan terpenoid sebesar 3,310.



## DAFTAR RUJUKAN

- Adisasmito, W. (2007). Faktor resiko diare pada bayi dan balita di indonesia,systematic review penelitian akademik bidang kesehatan masyarakat. Vol 11, No, 1 : 1-10.
- Guerrant, R. L., Van Gilder, T., Steiner, T. S., Thielman, N. M., Slutsker, L., Tauxe, R. V., Hennessy, T., Griffin, P. M., DuPont, H., Sack, R. B., Tarr, P., Neill, M., Nachamkin, I., Reller, L. B., Osterholm, M. T., Bennish, M. L., Pickering, L. K., & Infectious Diseases Society of America (2001). Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. Clinical infectious diseases : an official publication of the *Infectious Diseases Society of America*, 32(3), 331–351. <https://doi.org/10.1086/318514>
- Jawetz., Melnick., dan Adelberg. 2005. Mikrobiologi KedokteranPenerjemah dan editor Bagian Mikrobiologi Kedokteran Universitas Airlangga, Penerbit Salemba Medika, Jakarta
- Kaawoan, P. T., Abidjulu, J., dan Siagian, K. V. (2016). Uji daya hambat ekstrak buah pala (*Myristica fragans* Houtt) terhadap bakteri penyebab periodontitis *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro. Vol. 4 No. 2 111-114
- Muttaqin, G. M. E., Hartoyo, E., dan Marisa D. (2006). Gambaran isolat bakteri aerob diare pada anak yang dirawat di RSUD ulin banjarmasin tahun 2015. *Berkala Kedokteran*, Vol. 12, No. 1: 87-93
- Pelczar, M. J., dan E.C.S, Chan. 2006. *Dasar–Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press
- Rianto S., dan Loecke K.. 1995. Golongan Tetrasiklin dan Kloramfenikol. Dalam Farmakologi dan Terapi edisi 4. Jakarta : Gaya Baru. Hal 657-658.
- Rumopa P. M. E., Awaloei, H., dan Mambo C. (2016). Uji daya hambat ekstrak biji pala (*Myristicae fragans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Vol. 4, No. 2