

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT KAYU AKWAY (*Drimys piperita* Hook f.) TERHADAP BAKTERI PATOGEN

Antibacterial Activities of Akway (*Drimys piperita* Hook f.) Bark Extracts on Pathogenic Bacteria

Gino Nemesio Cepeda, Meike Meilan Lisangan, Isak Silamba

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian dan Teknologi Pertanian, Universitas Negeri Papua
Jl. Gunung Salju Amban Manokwari 98314
Email: ginocepeda@yahoo.com

ABSTRAK

Akway (*Drimys piperita* Hook f) adalah tumbuhan berkayu, berdaun hijau yang aromatik dan tergolong dalam famili Winteraceae. Tumbuhan ini digunakan oleh Suku Sougb yang bermukim di desa Surorey Distrik Manokwari Papua Barat untuk mengobati malaria dan meningkatkan vitalitas tubuh. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan kapasitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway pada beberapa tingkat konsentrasi, waktu pemanasan ekstrak pada 100°C, tingkat keasaman (pH) dan kandungan garam. Proses ekstraksi kulit kayu akway dilakukan dengan menggunakan metode maserasi pada suhu ruang selama 72 jam. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol, etilasetat dan heksan. Pengujian kapasitas antibakteri ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar terhadap empat spesies bakteri, yaitu *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi dan tingkat keasaman mempengaruhi kapasitas antibakteri ekstrak etilasetat kulit kayu akway. Pemanasan pada suhu 100°C selama 25 menit dan kandungan garam sampai 5% tidak mempengaruhi kapasitas antimikroba ekstrak kulit kayu akway.

Kata kunci: Akway, ekstrak, antibakteri, pemanasan, pH dan kandungan garam

ABSTRACT

Akway (*Drimys piperita* Hook f.) is a woody, evergreen and aromatic plant that was a member of Winteraceae. This plant is used by Sougb tribe living in Surorey village, District of Manokwari, West Papua to heal malaria and to enhance the vitality of body. The objectives of the research were to determine antibacterial activities of extract of akway bark on some concentrations, heating time on 100°C, level of acidity (pH) and salt content. The extraction process of akway bark was done by using maceration method at room temperature for 72 hours. The extraction was done by using three kinds of solvent, those are ethanol, ethylacetate and hexane. Antibacterial capacity assay was done by using agar diffusion method on four species of bacteria those are *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923. The results indicated that concentration and level of acidity influenced the antibacterial capacity of ethylacetate extract of akway bark. Whereas heating time on 100°C during 25 minutes and salt content up to 5% of extract solution did not influence the antibacterial capacity of akway bark extracts.

Keywords: Akway, extract, antibacterial, heating, pH and salt content

PENDAHULUAN

Tumbuhan obat berperan penting dalam kesehatan individu maupun masyarakat. Khasiat dari suatu tumbuhan obat terletak pada beberapa senyawa kimia aktif atau senyawa fitokimia yang dapat menghasilkan pengaruh fisiologik dalam tubuh manusia. Senyawa-senyawa fitokimia tersebut

diantaranya adalah alkaloid, saponin, tanin, glikosida, flavonoid, terpenoid dan steroid. Banyak tumbuhan asli yang terdapat di suatu daerah sering digunakan untuk tujuan pengobatan (Rahayu dkk., 2006).

Akway (*Drimys piperita* Hook. f) merupakan tumbuhan endemik Papua, yang merupakan tumbuhan berkayu, berdaun aromatik dan termasuk kerabat Winteraceae (Stevens, 2015).

Akway digunakan sebagai tumbuhan obat tradisional oleh Suku Sougb di Distrik Sururey Papua Barat. Tumbuhan ini digunakan untuk mengobati malaria dan untuk meningkatkan daya tahan tubuh dalam melakukan pekerjaan berat, serta untuk meningkatkan vitalitas tubuh (Paliling, 2004).

Beberapa penelitian tentang senyawa fitokimia penyusun ekstrak akway telah dilakukan. Ekstrak etanol bubuk kulit kayu *Drimys piperita* dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* verotoksigenik, yang menyebabkan diare berdarah (Cepeda, 2008), sedangkan daunnya mengandung senyawa yang bersifat anti diare (Pladio dan Villasenor, 2004). Cepeda dkk. (2010) juga melaporkan, bahwa ekstrak metanol dan etilasetat kulit kayu *D. piperita* mengandung senyawa fenolik (flavonoid, terpenoid dan tanin), saponin dan alkaloid. Kandungan total fenol dan flavonoid ekstrak metanol daun *D. piperita* cukup tinggi masing-masing 18,64% dan 7% (Cepeda, dkk., 2010). Senyawa flavonoid, tanin dan senyawa fenolik lainnya dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba (Davidson dan Naidu, 2000).

Ekstrak dari berbagai sumber tanaman atau tumbuhan telah dibuktikan dapat menghambat pertumbuhan berbagai spesies mikroba secara *in vitro*, menggunakan metode agar *diffusion*. Cepeda (2009) melaporkan, bahwa ekstrak etanol sereh dapat menghambat pertumbuhan dan produksi toksin *Escherichia coli* verotoksigenik. Ekstrak metanol *Lecaniodiscus cupanioides* dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Sofidiya dkk., 2008). Ekstrak air dan metanol daun *Lawsonia inermis* Linn. dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Saadabi, 2007) serta ekstrak etilasetat daun beluntas dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen dalam makanan (Ardiansyah, 2002).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak dari berbagai tumbuhan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Namun demikian sampai saat ini informasi tentang kemampuan antibakteri ekstrak etilasetat *Drimys piperita* terhadap bakteri-bakteri patogen yang menyebabkan penyakit lewat makanan belum pernah dilaporkan, oleh sebab itu penelitian ini ditujukan untuk mengetahui kapasitas antimikroba ekstrak *Drimys piperita* terhadap bakteri-bakteri patogen yang menyebabkan penyakit lewat makanan dan pengaruh faktor pengolahan pangan seperti pemanasan, penambahan garam NaCl dan tingkat keasaman (pH) terhadap kapasitas antibakterinya.

METODE PENELITIAN

Persiapan Bahan

Akway (*Drimys piperita*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Distrik Anggi Kabupaten Manokwari, Papua Barat. Kulit kayu yang digunakan berasal dari tumbuhan akway dengan diameter batang utama \pm 8-10 cm. Sebanyak \pm 5 kg kulit kayu dikeringkan-anginkan selama kurang lebih 5 hari sampai kulit kayu menjadi mudah hancur. Kulit kayu yang sudah kering digiling dan diayak dengan ukuran 40 mesh. Bubuk yang diperoleh dikemas dalam kemasan plastik polietilen kapasitas 1 kg.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol, etilasetat dan heksan (JT. Baker, p.a. 99,9%). Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Perbandingan bubuk kulit kayu akway dan pelarut adalah 1:4. Ekstraksi dilakukan pada suhu kamar selama 72 jam. Selama proses ekstraksi dilakukan pengadukan dengan menggunakan *shaker incubator*. Ekstrak yang diperoleh dari hasil penyaringan, pelarutnya diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* Eyela N1000 pada suhu 40°C dengan kecepatan 60 rpm. Ekstrak hasil penguapan, disimpan dalam botol yang berwarna gelap.

Persiapan Kultur Bakteri

Kultur bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Vial isolat kultur bakteri uji dibuka secara aseptik, kemudian ditambahkan Nutrient Broth (NB) (Oxoid) sebanyak 1 ml dan diaduk hingga tercampur sempurna. Campuran kultur dan medium NB dipipet dan dipindahkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 ml NB dan divorteks. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur yang telah tumbuh dalam medium NB, digores pada medium agar miring *Nutrient Agar* (NA) (Oxoid) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah terlihat pertumbuhan bakteri pada agar miring, kultur bakteri siap digunakan dalam pengujian.

Pengujian Daya Hambat pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Ekstrak

Sebanyak 500 μ l kultur bakteri uji (10^7 cfu/ml), yang telah ditumbuhkan dalam medium NB pada suhu 37°C selama 20 jam, disebarkan merata pada permukaan medium NA yang telah membeku dalam cawan petri. Kemudian pada media NA yang sudah membeku dibuat sumur dengan diameter 6 mm. Masing-masing sumur dimasukkan ekstrak sebanyak

60 µL dengan perlakuan konsentrasi; 0 (pelarut 100%), 5, 10, 15, 20, dan 25% (b/v), dengan kontrol positif penisilin G (10%). Masing-masing perlakuan dilakukan dengan ulangan 2 kali. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona penghambatan (zona bening disekitar sumur diukur dengan menggunakan kaliper (Modifikasi Elzaawely dkk., 2005).

Penentuan Konsentrasi Penghambatan Minimum (KPM)

Penentuan nilai KPM dilakukan berdasarkan daya hambat ekstrak etilasetat pada berbagai konsentrasi menggunakan metode Bloomfield (1991), yaitu dengan memplotkan antara nilai $\ln M$ (\ln konsentrasi ekstrak) pada sumbu X, terhadap nilai kuadrat zona penghambatan ekstrak terhadap bakteri uji (Z^2) pada sumbu Y. Perpotongan antara persamaan yang diperoleh dari regresi linear $Y = a + bX$ dengan sumbu X adalah nilai Mt. Mt adalah nilai \ln konsentrasi ekstrak pada perpotongan persamaan regresi linear pada $Y = 0$ dengan sumbu X. Nilai KPM adalah $0.25 \times$ nilai konsentrasi ekstrak pada titik Mt.

Pengujian Pengaruh Faktor Pengolahan Ekstrak terhadap Daya Antibakteri Ekstrak

Pengujian pengaruh faktor pengolahan terhadap daya antimikroba ekstrak akway meliputi uji pengaruh pemanasan pada suhu 100°C, tingkat keasaman (pH) dan penambahan garam NaCl. Pengujian ini dilakukan terhadap ekstrak terpilih, yaitu ekstrak etilasetat dengan daya hambat terbesar pada uji pengaruh tingkat konsentrasi ekstrak. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 10%, yaitu konsentrasi ekstrak terendah yang memiliki daya hambat yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji statistik dengan konsentrasi yang lain pada semua bakteri uji.

Daya Antibakteri pada Beberapa Tingkat Pemanasan Suhu 100°C

Sebanyak 500 µL kultur bakteri uji (10^7 cfu/mL), yang telah ditumbuhkan dalam medium NB pada suhu 37°C selama 20 jam, disebarkan merata pada permukaan medium NA yang telah membeku dalam cawan petri. Kemudian pada medium NA yang sudah membeku dibuat sumur dengan diameter 6 mm. Masing-masing sumur dimasukkan ekstrak sebanyak 60 µL yang telah dipanaskan pada suhu 100°C selama 0 (tanpa pemanasan), 5, 10, 15, 20 dan 25 menit. Masing-masing perlakuan dilakukan dengan ulangan 2 kali. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona penghambatan (zona bening di sekitar sumur) diukur dengan menggunakan kaliper (Modifikasi Elzaawely dkk., 2005).

Daya Antibakteri pada Beberapa Tingkat Keasaman (pH)

Sebanyak 500 µL kultur bakteri uji (10^7 cfu/mL), yang telah ditumbuhkan dalam medium NB pada suhu 37°C selama 20 jam, disebarkan merata pada permukaan medium NA yang telah membeku dalam cawan petri. Kemudian pada medium NA yang sudah membeku dibuat sumur dengan diameter 6 mm. Masing-masing sumur dimasukkan ekstrak konsentrasi 10% sebanyak 60 µL dengan perlakuan tingkat keasaman ekstrak, yaitu pH 4, 5, 6, 7 dan 8,5. Tingkat keasaman ekstrak diatur dengan penambahan asam asetat glasial dan Kalium Hidroksida 0,1 N. Masing-masing perlakuan dilakukan dengan ulangan 2 kali. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona penghambatan (zona bening di sekitar sumur) diukur dengan menggunakan kaliper (Modifikasi Elzaawely dkk., 2005).

Daya Antibakteri pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Garam

Sebanyak 500 µL kultur bakteri uji (10^7 cfu/mL), yang telah ditumbuhkan dalam medium NB pada suhu 37°C selama 20 jam, disebarkan merata pada permukaan medium NA yang telah membeku dalam cawan petri. Kemudian pada medium NA yang sudah membeku dibuat sumur dengan diameter 6 mm. Masing-masing sumur dimasukkan ekstrak etilasetat sebanyak 60 µL dengan perlakuan konsentrasi garam NaCl ekstrak masing-masing 0 (tanpa penambahan garam), 1, 2, 3, 4, dan 5% (b/v). Masing-masing perlakuan dilakukan dengan ulangan 2 kali. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona penghambatan (zona bening disekitar sumur) diukur dengan menggunakan kaliper (Modifikasi Elzaawely dkk., 2005).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam rancangan acak kelompok (RAK) dengan tingkat kepercayaan 0,95 ($\alpha = 0,05$). Perlakuan yang berbeda nyata dilakukan uji lanjutan menggunakan Beda Nyata Jujur (BNJ).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antimikroba Ekstrak Akway pada Beberapa Tingkat Konsentrasi

Hasil pengujian kapasitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway pada konsentrasi 0-25% menunjukkan bahwa ekstrak etanol hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *S. aureus*, ekstrak heksan dapat menghambat *E. coli*, *B. cereus* dan *S. aureus* sedangkan ekstrak etilasetat

dapat menghambat semua bakteri uji. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berpengaruh nyata terhadap daya antibakteri ekstrak etilasetat sedangkan pada ekstrak etanol dan heksan peningkatan konsentrasi tidak menunjukkan pengaruh yang nyata pada $\alpha = 0,05$ (Tabel 1.).

Kemampuan ekstrak etilasetat akway dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji disebabkan oleh senyawa-senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Ekstrak etilasetat kulit kayu akway dilaporkan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan terpenoid (Cepeda, 2008). Jenis senyawa terpenoid yang terdapat dalam kulit kayu akway adalah α -pinen, β -pinen dan 4-terpineol (Cepeda, dkk., 2011). Senyawa-senyawa tersebut diduga merupakan senyawa-senyawa yang berperan sebagai antibakteri di dalam ekstrak etilasetat karena senyawa-senyawa tersebut telah dilaporkan memiliki daya antibakteri dan antijamur yang kuat (Chang dkk., 2008; Mercier dkk., 2009).

Penghambatan ekstrak etilasetat terhadap pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak 0-25% (menurunnya konsentrasi pelarut yang digunakan) menyebabkan meningkatnya diameter zona penghambatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat kulit kayu akway memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji. Peningkatan kapasitas ekstrak etilasetat akway dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji dengan meningkatnya konsentrasi diduga disebabkan oleh peningkatan jumlah senyawa-senyawa antibakteri yang ada di dalam ekstrak akway.

Makin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan menyebabkan makin tinggi pula jumlah senyawa-senyawa yang ada dalam ekstrak. Peningkatan konsentrasi senyawa-senyawa antimikroba dalam ekstrak akan meningkatkan laju difusi senyawa-senyawa antimikroba tersebut dalam medium agar sehingga diameter zona penghambatan dalam medium agar semakin besar pula.

Tabel 1. Daya antibakteri ekstrak kulit kayu akway pada beberapa konsentrasi

Pelarut	Konsentrasi ekstrak (%)	Diameter zona penghambatan (mm)			
		Bakteri uji			
		<i>E. coli</i> *)	<i>B. Cereus</i> *)	<i>P. aeruginosa</i> *)	<i>S. aureus</i> *)
Etanol	0	10,15	8,18	8,55	8,13
	5	0,00	12,18	0,00	11,03
	10	0,00	13,13	0,00	16,08
	15	0,00	15,35	0,00	19,08
	20	0,00	16,83	0,00	19,10
	25	0,00	19,28	0,00	19,30
	Penicilin G (10%)	34,23	19,85	0,00	60,45
Etilasetat	0	8,65 ^a	7,60 ^a	9,10 ^a	0,00 ^a
	5	12,53 ^{ab}	15,55 ^b	11,75 ^{ab}	13,50 ^b
	10	13,83 ^b	16,05 ^b	12,40 ^{ab}	15,00 ^{bc}
	15	14,65 ^b	16,83 ^b	12,48 ^{ab}	15,33 ^{bc}
	20	15,15 ^b	17,55 ^b	13,55 ^{ab}	16,93 ^{bc}
	25	15,45 ^b	18,15 ^b	14,05 ^b	18,58 ^c
	Penicilin G (10%)	33,40	13,50	0,00	63,00
Heksan	0	9,53	8,88	9,25	10,73
	5	13,30	17,28	0,00	12,55
	10	13,95	19,25	0,00	17,43
	15	14,05	18,35	0,00	18,00
	20	15,80	19,15	0,00	18,95
	25	15,28	19,48	0,00	18,00
	Penicilin G (10%)	33,68	19,15	0,00	64,60

*) Nilai yang diikuti dengan notasi yang berbeda menunjukkan perlakuan berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol hanya menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif saja, ekstrak heksan dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif *E. coli* sedangkan ekstrak etilasetat dapat menghambat pertumbuhan semua bakteri Gram positif dan negatif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat merupakan ekstrak yang memiliki daya antimikroba dengan spektrum yang luas. Disamping itu ekstrak etilasetat memiliki kapasitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* ATCC27853 yang merupakan bakteri uji yang resisten terhadap penisilin G. Pada konsentrasi ekstrak etilasetat 10% menghasilkan diameter zona penghambatan terhadap pertumbuhan *P. aeruginosa* sebesar 12,40 mm sedangkan pada konsentrasi yang sama, penisilin G tidak bisa menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Hal ini menunjukkan ekstrak etilasetat memiliki potensi yang besar untuk digunakan sebagai sumber senyawa antibakteri alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang tahan terhadap antibiotik.

Konsentrasi Penghambatan Minimum (KPM)

KPM adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam suatu medium. Hasil menunjukkan bahwa KPM ekstrak kulit kayu akway terhadap bakteri uji adalah 0,25-0,55% (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Perhitungan KPM

Bakteri	Regresi Linear	R ²	Mt	KPM (%)
<i>E. coli</i>	Y = 29,47X - 5,29	0,99	0,18	0,30
<i>B. Cereus</i>	Y = 50,60X - 17,20	0,99	0,34	0,35
<i>P. aeruginosa</i>	Y = 18,63X - 0,26	0,84	0,01	0,25
<i>S. aureus</i>	Y = 56,52X - 44,71	0,83	0,79	0,55

KPM ekstrak etilasetat tersebut relatif lebih kecil dibandingkan dengan beberapa penelitian tentang ekstrak tumbuhan lainnya terhadap bakteri tersebut. KPM ekstrak etanol *Tamarindus indica* terhadap *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* dan *S. aureus* sebesar 0,8-2,0% (Doughari, 2006), sedangkan ekstrak etanol *Sida acuta* berkisar 0,5-1,0% (Obloh dkk., 2007) dan ekstrak air bawang putih sebesar 0,6-1,8% (Durairaj, 2009). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat memiliki potensi untuk digunakan sebagai sumber senyawa antibakteri.

Tabel 2 juga menunjukkan bahwa nilai KPM paling rendah, yaitu sebesar 0,26% sudah dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* yang merupakan bakteri yang resisten terhadap penisilin G. Hal ini menunjukkan bahwa *P. aeruginosa* lebih rentan terhadap ekstrak etilasetat akway dibandingkan dengan bakteri uji lainnya. Sedangkan bakteri

yang paling tahan terhadap ekstrak etilasetat adalah *S. aureus*. Hal ini dapat dilihat dari nilai KPM yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut adalah sebesar 0,54% atau kira-kira dua kali lebih tinggi dari konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat *P. aeruginosa*. Perbedaan resistensi bakteri tersebut diduga disebabkan oleh perbedaan sensitivitas bakteri-bakteri tersebut terhadap senyawa-senyawa antibakteri yang ada di dalam ekstrak etilasetat.

Aktivitas Antimikroba Ekstrak pada Pemanasan 100°C

Pengujian pengaruh pemanasan ekstrak etilasetat kulit kayu akway dilakukan pada suhu 100°C selama 0-25 menit. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan senyawa-senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak akway terhadap proses pemanasan yang merupakan proses pengolahan pangan yang sering dilakukan. Hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa pemanasan ekstrak pada suhu 100°C selama 25 menit tidak berpengaruh nyata terhadap kapasitas antibakteri ekstrak etilasetat kulit kayu akway terhadap bakteri uji (Tabel 3).

Tabel 3. Pengaruh pemanasan pada suhu 100°C terhadap aktivitas antibakteri ekstrak

Lama pemanasan pada suhu 100°C (Menit)	Diameter zona penghambatan (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
0	12,95	15,75	15,78	14,28
5	12,60	12,65	15,23	14,00
10	12,70	15,48	15,68	13,03
15	13,20	15,00	15,55	13,30
20	13,08	15,25	15,40	13,33
25	13,00	15,65	15,30	13,35

Perlakuan pemanasan ekstrak etilasetat akway pada suhu 100°C selama 0-25 menit cenderung tidak merusak senyawa-senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Hal ini dapat dilihat dari diameter zona penghambatan ekstrak etilasetat terhadap bakteri *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus* masing-masing sebesar 12,60-13,20, 12,65-15,75, 15,23-15,68 dan 13,03-14,00 mm yang tidak menunjukkan perubahan daya antibakteri yang nyata.

Hasil yang sama pula ditemukan pada ekstrak *Coriandrum sativum*, *Hibiscus sabdariffa* dan bunga kecombrang dimana pemanasan ekstrak pada suhu 80-121°C selama 30 menit tidak berpengaruh nyata terhadap daya antibakterinya (Cao dkk., 2012; Higginbotham dkk., 2014; Naufalin dkk., 2006) sedangkan pada ekstrak daun pepaya ditemukan hal yang

berbeda, yaitu pemanasan berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri ekstrak. Ketahanan senyawa-senyawa antibakteri dalam ekstrak etilasetat akway menunjukkan bahwa ekstrak tersebut sangat berpotensi digunakan sebagai sumber senyawa antibakteri untuk pengawetan pangan yang diolah dengan proses pemanasan pada suhu 100°C.

Aktivitas Antimikroba Ekstrak pada Beberapa Tingkat Keasaman (pH)

Pengujian pengaruh pH ekstrak etilasetat terhadap kapasitas antibakterinya dilakukan pada pH 4-8,5. Tingkat keasaman atau pH tersebut merupakan selang pH pertumbuhan untuk sebagian besar bakteri (Jay, 2000). Hasil menunjukkan bahwa pH rendah akan meningkatkan kapasitas antibakteri ekstrak etilasetat kulit kayu akway (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh tingkat keasaman (pH) terhadap aktivitas antibakteri ekstrak

Tingkat keasaman (pH)	Diameter zona penghambatan (mm)			
	<i>E. coli</i> *	<i>B. cereus</i> *	<i>P. aeruginosa</i> *	<i>S. aureus</i> *
4	15,71 ^a	19,09 ^a	11,19 ^a	17,56 ^a
5	15,36 ^{ab}	17,91 ^{bc}	10,58 ^{ab}	16,00 ^b
6	14,76 ^{bc}	17,43 ^{bc}	10,19 ^b	15,60 ^b
7	14,09 ^c	17,35 ^c	10,35 ^b	15,93 ^b
8,5	14,45 ^c	18,08 ^b	10,75 ^{ab}	15,60 ^b

* Nilai yang diikuti dengan notasi yang berbeda menunjukkan perlakuan berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

Ekstrak etilasetat dengan pH 4 memiliki daya antibakteri yang paling kuat kemudian diikuti oleh pH 5, 6 dan 7. Hasil yang serupa juga dilaporkan oleh Romasi dkk. (2011) dan Campo dkk. (2000), bahwa daya antibakteri ekstrak daun *papaya* dan *rosemary* meningkat dengan menurunnya pH.

Perlakuan tingkat keasaman (pH) yang rendah memiliki dampak sinergis terhadap daya antibakteri ekstrak etilasetat akway. Asam dapat menurunkan pH sitoplasma sel bakteri dan berdampak pada terganggunya kerja enzim-enzim di dalam sel dan aktivitas transportasi melalui membran termasuk transport nutrisi ke dalam sel (Ray, 2001) serta dapat menyebabkan kerusakan membran luar sel dan menyebabkan senyawa-senyawa antibakteri yang bersifat hidrofobik lebih mudah masuk dalam sel (Alakomi dkk., 2000). Perubahan-perubahan tersebut diduga akan menyebabkan sel-sel bakteri lebih rentan terhadap senyawa-senyawa antibakteri yang masuk ke dalam sel sehingga pH yang rendah akan meningkatkan daya antibakteri ekstrak etilasetat akway. Pengaruh sinergis dari pH rendah terhadap daya antibakteri ekstrak etilasetat akway menunjukkan

bahwa ekstrak etilasetat kulit kayu akway sangat berpotensi digunakan sebagai sumber antibakteri produk pangan dengan pH rendah.

Proses yang sama diduga juga terjadi pada perlakuan pH yang tinggi. Ekstrak etilasetat dengan pH 7 memiliki daya antibakteri yang paling rendah kemudian dengan peningkatan pH ekstrak menjadi pH 8,5 cenderung meningkatkan daya hambatnya. Peningkatan daya hambat ekstrak etilasetat pada pH 8,5 diduga disebabkan oleh pengaruh ion hidroksil yang terbentuk pada pH tinggi. Ion hidroksil dapat menginduksi peroksidasi lipid sehingga menyebabkan kerusakan fosfolipid dalam membran sel bakteri yang dapat menyebabkan kematian sel (Siqueira dan Lopes, 1999). Kerusakan membran sel bakteri tersebut akan memudahkan senyawa-senyawa antibakteri dalam ekstrak untuk masuk ke dalam sel dan mempercepat kematian sel.

Aktivitas Antimikroba Ekstrak pada Beberapa Konsentrasi Garam

Pengujian pengaruh konsentrasi garam NaCl ekstrak etilasetat akway dilakukan pada konsentrasi 0-5%. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan garam terhadap daya antibakteri ekstrak kulit kayu akway. Hasil menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak etilasetat kulit kayu akway terhadap *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus* pada konsentrasi garam 0-5% masing-masing adalah 13,65-14,29, 18,10-18,50, 10,00-11,05 dan 14,98-15,66 mm (Tabel 5). Berdasarkan hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa perlakuan penambahan garam tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat akway. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan garam sampai dengan 5% cenderung tidak meningkatkan kapasitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway.

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi garam terhadap aktivitas antibakteri ekstrak

Konsentrasi Garam (%)	Diameter Zona Penghambatan (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>B. Cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
0	13,78	18,45	10,00	15,60
1	14,01	18,50	10,50	15,25
2	13,71	18,11	10,23	15,33
3	13,65	18,10	10,28	15,66
4	14,23	18,25	10,68	15,11
5	13,89	18,50	11,05	14,98

Perlakuan konsentrasi garam yang tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri tersebut diduga disebabkan

konsentrasi garam yang digunakan tersebut masih berada dalam selang toleransi kandungan garam untuk pertumbuhan bakteri tersebut. Garam telah diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menurunkan aktivitas air dan menarik air keluar dari dalam sel bakteri akibat perbedaan tekanan osmotik (Jay, 2000). Menurut Brewer (2000), aktivitas air (a_w) yang menunjang pertumbuhan sebagian besar bakteri adalah 0,95-0,99 atau setara dengan konsentrasi garam 0-8% oleh sebab itu penggunaan garam dengan konsentrasi 0-5% tidak akan menghambat pertumbuhan *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus* karena masih dalam selang toleransi kandungan garam untuk pertumbuhannya. Toleransi kandungan garam untuk pertumbuhan *S. aureus* dilaporkan sebesar 15% (Tsai dkk., 2011), *E. coli* 5% (Hrenovic dan Ivankovic, 2009), *B. cereus* 7,5% (Batt, 2000) dan *P. aeruginosa* 5% (Sivaprakasam dkk., 2008).

KESIMPULAN

Ekstrak etilasetat kulit kayu akway memiliki kapasitas antibakteri yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol dan heksan. Daya antibakteri ekstrak etilasetat kulit kayu akway meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang digunakan. Ekstrak etilasetat dengan pH 4 memiliki daya antibakteri tertinggi. Perlakuan pemanasan pada suhu 100°C sampai 25 menit dan penambahan garam sampai 5% tidak merubah kapasitas antibakteri ekstrak. Ekstrak etilasetat akway berpotensi digunakan sebagai sumber antibakteri alami pada produk pangan yang dioleh dengan pemanasan dan pH rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini melalui penelitian Hibah Bersaing tahun anggaran 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Alakomi, H.L., Skytta, E., Saarela, M. dan Mattila-Sandholm, T. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membran. *Applied Environmental Microbiology* **66**: 2001-2005.
- Ardiansyah (2002). *Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Beluntas (Plucea indica L.)*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Batt, C.A. (2000). *Bacillus cereus*. Dalam: Robinson, R.K., Batt, C.A. dan Patel, P. D. (ed.). *Encyclopedia of Food Microbiology*, hal 119-124. Academic Press, London.
- Bloomfield, S.F. (1991). Methods for assessing antimicrobial activity. Dalam: Denyer, S.P., Hugo, W.B., (ed.). *Mechanism of Action of Chemical Biocides Their Study and Exploitation*, hal 1-22. Blackwell Scientific Publication, London.
- Brewer, M.S. (2000). Traditional preservatives-sodium chloride. Dalam: Robinson, R.K., Batt, C.A. dan Patel, P.D. (ed.). *Encyclopedia of Food Microbiology*, hal 1723-1728. Academic Press, London.
- Campo, J.D., Amiot, M.J. dan Nguyen-The, C. (2000). Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection* **63**: 1359-1368.
- Cao, X.Z., You, J.M., Lin, X.S. dan Zhang, Y.L. (2012). Antimicrobial activity of the extracts from *Coriandrum sativum*. *International Journal of Food Nutrition and Safety* **1**(2) :54-59.
- Cepeda, G.N. (2005). *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Sereh (Cymbopogon citratus Staph L.) terhadap Pertumbuhan dan Produksi Verotoksin oleh Escherichia coli verotoksigenik*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Cepeda, G.N. (2008). Daya hambat akway (*Drimys piperita Hook f.*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. *Agrotek* **1**(3): 41-50.
- Cepeda, G.N. (2009). Penghambatan ekstrak etanol sereh (*Cymbopogon citratus (DC.) Stapf*) pada beberapa konsentrasi garam dan pH terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* verotoksigenik. *Agrotek* **1**(4): 9-17.
- Cepeda, G.N., Santoso, B.B., Lisangan, M.M. dan Silamba, I. (2010). Penapisan fitokimia akway (*Drimys piperita Hook f.*). *Agrotek* **1**(8): 28-33.
- Cepeda, G.N., Santoso, B.B., Lisangan, M.M. dan Silamba, I. (2011). Komposisi kimia minyak atsiri kulit kayu akway (*Drimys piperita Hook f.*). *Bionatura* **13**(2): 118-124.
- Chang, H.T., Cheng, Y.H., Wu, C.L., Chang, S.T., Chang, T.T. dan Su, Y.C. (2008). Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. Formosana florin leaf against plant pathogenic fungi. *Bioresources Technology* **99**: 6266-6270.
- Davidson P.M. dan Naidu A.S. (2000). Phyto-phenols. Dalam: Naidu, A.S., (ed). *Natural Food Antimicrobial System*, hal 265-294. CRC Press, New York.

- Doughari, J.H. (2006). Antimicrobial activity of *Tamarindus indica* Linn. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **5**(2): 597-603.
- Durairaj, S., Srinivasan, S. dan Lakshmanaperumalsamy, P. (2009). In vitro antibacterial activity and stability of garlic extract at different pH and temperature. *Electronic Journal of Biology* **5**(1): 5-10.
- Elzaawely, A.A., Xuan, T.D. dan Tawata, S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of *Rumex japonicus* Houtt. aerial parts. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **28**(12): 2225-2230.
- Higginbotham, K.L., Burris, K.P., Zivanovic, S., Davidson, P.M. dan Steward-Jr., C.N. (2014). Antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extracts against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in a microbiological medium and milk of various fat concentrations. *Journal of Food Protection* **77**(2): 262-268.
- Hrenovic, J. dan Ivankovic, T. (2009). Survival of *Escherichia coli* and *Acinetobacter junii* at various concentrations of sodium chloride. *EurAsia Journal of BioSciences* **3**: 144-151.
- Jay, J.M. (2000). *Modern Food Microbiology*. 6th edn. Aspen Publishers Inc, Maryland.
- Mercier, B., Frost, J. dan Frost, M. (2009). The essential oil of turpentine and its major volatile fraction (α - and β -pinene): *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* **22**(4): 331-342.
- Naufalin, R., Jenie, B.S.L., Kusnandar, F., Sudarwanto, M. dan Rukmini, H.S. (2006). Pengaruh pH, NaCl dan pemanasan terhadap stabilitas antibakteri bunga kecombrang dan aplikasinya pada daging sapi giling. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* **17**(3): 197-203.
- Oboh, I.E., Akerele, J.O. dan Obasuyi, O. (2007). Antimicrobial activity of the ethanol extract of the aerial parts of *Sida acuta* Burn f. (Malvaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **6**(4): 809-813.
- Paliling, B.T. (2004). *Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat Tradisional oleh Masyarakat Suku Sougb di Kampung Sururey Distrik Sururey Kabupaten Manokwari*. Fakultas Kehutanan Universitas Negeri Papua, Manokwari.
- Pladio L.P. dan Villasenor (2004). Anti-spasmodic Constituents from *Drimys piperita* Hook F. Leaves. *Philippine Journal of Science* **133**(1): 17-21.
- Rahayu, M., Sunarti, S., Sulistiari, D. dan Prawirodmojo, S. (2006). Pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional oleh masyarakat lokal di Pulau Wawonii, Sulawesi Tenggara. *Biodiversitas* **7**(3): 245-250.
- Ray, B. (2001). *Fundamental Food Microbiology*. 2nd edn, CRC Press, New York.
- Romasi, E.F., Karina, J. dan Parhusip, A.J.N. (2011). Antibacterial activity of papaya leaf extracts against pathogenic bacteria. *Makara Seri Teknologi* **15**(2): 173-177.
- Saadabi, M.A.A. (2007). Evaluation of *Lawsonia inermis* Linn. (Sudanese henna) leaf extracts as an antimicrobial agent. *Resource Journal of Biological Science* **2**: 419-423.
- Siqueira, Jr., J.F. dan Lopes, H.P. (1999). Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal* **32**: 361-369.
- Sivaprakasam, S., Mahadevan, S., Sekar, S. dan Rajakumar, S. (2008). Biological treatment of tannery wastewater by using salt-tolerant bacterial stains. *Microbial cell factories* **7**:15.
- Sofidiya, M.O., Jimoh, F.O., Aliero, A.A., Afolayan, A.J., Odukoya, O.A. dan Familoni, O.B. (2008). Antioxidant and antimicrobial properties of *Lecaniodiscus cupanioides*. *Resource Journal of Microbiology* **3**(2): 91-98.
- Stevens, P.F. (2015). Angiosperm phylogeny website: Canellales. <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/Apiweb/orders/canellalesweb.htm>. [1 Mei 2015].
- Tsai, M., Ohniwa, R.L., Kato, Y., Takeshita, S.L., Ohta, T., Saito, S., Hayashi, H. dan Morikawa, K. (2011). *Staphylococcus* requires cardiolipin for survival under conditions of high salinity. *BMC Microbiology* **11**(13): 1-12.