



## SIFAT ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN AKWAY (*Drimys piperita*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Bacillus cereus* DAN *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

[*In Vitro* Antibacterial Properties of Ethanol Extracts of Akway (*Drimys piperita*) Leaves on Growth of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*]

Gino Nemesio Cepeda<sup>1\*</sup>, Meike Meilan Lisangan<sup>1</sup>, Isak Silamba<sup>1</sup>, Nitia Nilawati<sup>2</sup>, Eka Syartika<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Papua Manokwari

<sup>2</sup>Alumni Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Papua Manokwari

\*E-mail : [ginocepeda.gc@gmail.com](mailto:ginocepeda.gc@gmail.com) (Telp: +6281344709369)

Diterima tanggal ... 2020

Disetujui tanggal 30 April 2020

### ABSTRACT

Akway (*Drimys piperita* Hook f.) is an aromatic plant belonging to the Winteraceae family. This plant is used as a medicinal plant to treat malaria and increase vitality. The purpose of this study was to evaluate the antibacterial properties of the ethanol extract of akway leaves at several levels of concentration, heating time at 100 °C, pH, and sodium chloride content. Antibacterial properties were tested using an agar well diffusion method of two bacterial strains, namely *Bacillus cereus* ATCC10876 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923. The results show that the ethanol extract of Akway leaves could inhibit the growth of *B. Cereus* and *S. aureus* with a minimum inhibitory concentration of 0.78% and 0.69%, respectively. Increasing the extract concentration tends to increase the antibacterial properties. The heating time for 25 minutes at a temperature of 100 °C, pH level 4-8.5, and sodium chloride concentration up to 5% had no significant effect on the antibacterial properties of the ethanol extract of Akway leaves.

**Keywords:** antibacterial properties, ethanol extracts, *Drimys piperita* leaves.

### ABSTRAK

Akway (*Drimys piperita* Hook f.) merupakan tumbuhan aromatik yang termasuk dalam keluarga winteraceae. Tumbuhan ini digunakan sebagai tumbuhan obat untuk mengobati malaria dan meningkatkan vitalitas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway pada beberapa tingkat konsentrasi, waktu pemanasan pada suhu 100°C, pH dan kandungan sodium klorida. Pengujian sifat antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *agar well diffusion* terhadap dua galur bakteri, yaitu *Bacillus cereus* ATCC10876 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun akway dapat menghambat pertumbuhan *B. Cereus* dan *S. aureus* dengan konsentrasi hambat minimum masing-masing sebesar 0,78% dan 0,69%. Peningkatan konsentrasi ekstrak cenderung meningkatkan sifat antibakteri ekstrak. Waktu pemanasan selama 25 menit pada suhu 100°C, level pH 4-8.5 dan konsentrasi sodium klorida sampai 5% tidak berpengaruh nyata pada sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway.

**Kata kunci:** sifat antibakteri, ekstrak etanol, daun *Drimys piperita*.



## PENDAHULUAN

Kontaminasi bakteri dalam pangan selain dapat menyebabkan kerusakan pangan juga dapat menyebabkan pangan tidak aman untuk dikonsumsi. Pertumbuhan bakteri dalam pangan dapat menyebabkan perubahan fisik maupun kimia dan juga dapat menimbulkan keracunan pangan. Jenis bakteri Gram positif yang umumnya mengontaminasi pangan dan dapat menyebabkan keracunan pangan adalah *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* (Mostafa *et al.*, 2018). Bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* dapat mengontaminasi pangan karena kemampuan untuk bertahan hidup selama proses penyiapan dan pengolahan pangan. Bakteri *S. aureus* dilaporkan dapat tumbuh pada lingkungan dengan suhu 7 - 48,5°C, pH 4,2 – 9,3 dan konsentrasi sodium klorida sampai 15% (Kadariya *et al.*, 2014) sedangkan *B. cereus* memiliki kemampuan memproduksi endospora yang tahan terhadap pemanasan (Carroll *et al.*, 2019) serta memiliki kemampuan untuk tumbuh pada berbagai jenis pangan (Tewari dan Abdullah, 2015). Selain itu juga kedua bakteri ini memiliki kemampuan menghasilkan enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan bagi manusia yang mengonsumsi pangan yang telah terkontaminasi.

Upaya untuk menurunkan risiko kesehatan yang ditimbulkan oleh keberadaan bakteri *S. aureus* dan *B. cereus* dapat dilakukan dengan penggunaan bahan tambahan pangan yang bersifat antibakteri. Tumbuhan obat merupakan salah satu sumber antibakteri alami yang potensial untuk menghambat pertumbuhan bakteri dalam pangan karena mengandung senyawa metabolit sekunder yang melimpah dan bersifat antibakteri (Abdallah, 2011).

Akway (*Drimys piperita* Hook. f) merupakan salah satu tumbuhan obat yang digunakan oleh masyarakat asli Kabupaten Pongkor, Papua Barat untuk mengobati malaria dan untuk meningkatkan vitalitas tubuh. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan aromatik karena mengandung sejumlah minyak atsiri dalam daun dan kulit batangnya (Cepeda *et al.*, 2011a; Cepeda *et al.*, 2011b; Zakariyah *et al.*, 2018). Daun akway mengandung minyak atsiri yang tersusun dari senyawa linalool 17,12%, Biformen 12,65%,  $\beta$ -pinen 7,35% dan  $\alpha$ -pinen 6,59% dan 4-terpineol 3,01% (Cepeda *et al.*, 2011a) sedangkan kulit kayunya mengandung  $\alpha$ -pinen 20,24%,  $\beta$ -pinen 14,88%, 4-terpineol 13,16% dan linalool 4% (Cepeda *et al.*, 2011b). Senyawa-senyawa seperti  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen dan linalool yang terdapat dalam tumbuhan akway dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat (Da Silva *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2015).

Ekstrak dari berbagai sumber tumbuhan obat telah dibuktikan bersifat antibakteri secara *in vitro*. Ekstrak etanol daun *Spathodea campanulata* menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan *Bacillus subtilis* (Kowti *et al.*, 2010), Ekstrak etanol daun sereh bersifat antibakteri terhadap pertumbuhan berbagai galur bakteri Gram negative *E. coli* verotoksigenik (Cepeda *et al.*, 2012). sedangkan ekstrak etanol *Zingiber officinale* dan *Bauhinia variegata* bersifat antibakteri kuat masing-masing terhadap bakteri *S. aureus* dan



*Streptococcus pyogenes* (Grace *et al.*, 2017; Sholihah dan Trisharyanti, 2017). Ekstrak etanol kulit kayu akway bersifat antibakteri terhadap *B. cereus* dan *S.aureus* (Cepeda *et al.*, 2019).

Kajian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dari berbagai tumbuhan obat menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari berbagai tumbuhan merupakan sumber antibakteri alami yang potensial untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Namun demikian menurut Seow *et al.* (2014), aktivitas antibakteri ekstrak sangat bergantung pada galur bakteri, konsentrasi, suhu, keasaman (pH) dan kandungan garam. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antibakteri ekstrak etanol daun akway terhadap bakteri Gram positif *S. aureus* dan *B. cereus* sebagai kontaminan utama pangan pada berbagai level konsentrasi, waktu pemanasan pada suhu 100°C, tingkat keasaman (pH) dan kandungan garam ekstrak serta potensi ekstrak etanol daun akway sebagai sumber antibakteri Gram positif alami.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan utama, yaitu daun akway yang diperoleh dari Kampung Surorey, Kabupaten Pegunungan Arfak, Papua Barat dan bahan-bahan penunjang penelitian yang terdiri dari sodium hidroksida, asam klorida, sodium klorida yang berasal dari Merck Jerman, etanol dari JT Baker USA, nutrient broth (NB) dan nutrient agar (NA) dari Oxoid dan kultur bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dan *Bacillus cereus* ATCC10876 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian IPB.

### Tahapan Penelitian

#### Preparasi Bubuk Daun Akway

Daun akway yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun berwarna hijau tua yang berasal dari pohon akway dengan diameter batang utama  $\pm$  8-10 cm. Daun akway yang diperoleh dikeringkan-anginkan selama kurang lebih 5 - 7 hari sampai daun menjadi mudah hancur. Daun yang sudah kering digiling dan diayak dengan ukuran 40 mesh. Bubuk daun yang diperoleh dimasukkan dalam kantong plastik kapasitas 1 kg (Cepeda *et al.*, 2015).

#### Ekstraksi Komponen Fitokimia Bubuk Daun Akway

Ekstraksi komponen fitokimia dalam bubuk daun akway dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan perbandingan etanol terhadap bubuk daun akway sebesar 4:1. Ekstraksi dilakukan dalam *shaker incubator* selama 72 jam pada suhu ruang. Setelah proses ekstraksi selesai, supernatan dipisahkan dari residunya dengan penyaringan vakum menggunakan kertas saring Whatman no. 1. Supernatan yang diperoleh dimasukkan dalam alat *rotary evaporator* pada



suhu 40°C pada kecepatan 60 rpm untuk menguapkan etanol. Ekstrak yang dihasilkan dari penguapan, dimasukkan ke dalam botol yang selanjutnya digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Cepeda *et al.*, 2018).

### Preparasi Kultur Bakteri Uji

Vial isolat bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* dibuka dan ditambahkan 1 ml *nutrient broth* (NB) secara aseptik dengan menggunakan mikropipet. Masing-masing kultur bakteri tersebut diaduk menggunakan vortex sampai kultur bakteri tercampur sempurna. Masing-masing kultur bakteri tersebut dipindahkan menggunakan mikropipet ke dalam 10 ml NB steril dalam tabung reaksi kemudian diaduk merata menggunakan vortex. Masing-masing kultur bakteri dalam tabung diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Biakan bakteri dalam tabung reaksi yang tumbuh dalam media NB, diinokulasi pada permukaan medium agar miring *nutrient agar* (NA) dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi lagi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan bakteri yang tumbuh dalam agar miring digunakan dalam pengujian sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway (Cepeda *et al.*, 2019).

### Pengujian efek konsentrasi terhadap sifat antibakteri ekstrak

Pengujian efek konsentrasi ekstrak etanol daun akway terhadap sifat antibakterinya dilakukan dengan menggunakan metode *agar well diffusion* (Balouiri *et. al.*, 2016). Biakan bakteri uji sebanyak 500 µl (10<sup>7</sup> CFU/ml), dipipet dan dipindahkan serta disebarakan secara merata pada permukaan medium NA steril yang telah membeku dalam cawan petri. Pada permukaan media NA dibuat sumur berdiameter 6 mm menggunakan tips dengan diameter 6 mm. Masing-masing sumur tersebut dimasukkan ekstrak etanol daun akway sebanyak 60 µl sesuai dengan perlakuan konsentrasi, yaitu 0-25% (b/v), sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah penicillin G (10%), Masing-masing perlakuan dilakukan dengan ulangan sebanyak 3 kali. Semua cawan petri kemudian dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Sifat antibakteri dinyatakan sebagai diameter zona bening yang mengelilingi sumur dan diukur menggunakan kaliper.

### Determinasi Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak

Determinasi KHM dilakukan dengan menggunakan metode Bloomfield (1991), yaitu dengan membuat persamaan regresi linear yang diperoleh dari nilai ln konsentrasi ekstrak daun akway pada sumbu X, terhadap nilai kuadrat penghambatan ekstrak etanol daun akway terhadap bakteri uji (P<sup>2</sup>) pada sumbu Y. Persamaan regresi linear  $Y = b + aX$  yang berpotongan dengan nilai ln konsentrasi pada sumbu X, merupakan titik K<sub>x</sub> (nilai ln konsentrasi ekstrak daun akway pada Y=0).  $KHM = 0,25 \times \text{Nilai konsentrasi ekstrak etanol daun akway pada titik } K_x$ .



### **Pengujian Efek Pemanasan Terhadap Sifat Antibakteri Ekstrak**

Pengujian efek pemanasan ekstrak etanol daun akway terhadap sifat antibakteri dilakukan menggunakan metode *agar well diffusion* (Balouiri *et. al.*, 2016). Biakan bakteri uji sebanyak 500  $\mu$ l ( $10^7$  CFU/ml), dipipet dan dipindahkan serta disebarakan secara merata pada permukaan medium NA steril yang telah membeku dalam cawan petri. Pada permukaan media NA dibuat sumur berdiameter 6 mm menggunakan tips dengan diameter 6 mm. Masing-masing sumur dimasukkan 60  $\mu$ l ekstrak daun akway konsentrasi 10% (b/v) yang telah dipanaskan selama 0-25 menit pada suhu 100°C. Kemudian semua cawan petri dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Sifat antibakteri ekstrak dinyatakan sebagai diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumur yang diukur dengan menggunakan kaliper.

### **Pengujian Efek pH Terhadap Sifat Antibakteri Ekstrak**

Biakan bakteri uji sebanyak 500  $\mu$ l ( $10^7$  CFU/ml), dipipet dan dipindahkan serta disebarakan secara merata pada permukaan medium NA steril yang telah membeku dalam cawan petri. Pada permukaan media NA dibuat sumur berdiameter 6 mm menggunakan tips. Masing-masing sumur tersebut dimasukkan ekstrak konsentrasi 10% (b/v) sebanyak 60  $\mu$ l sesuai dengan perlakuan tingkat keasamam (pH) ekstrak, yaitu pH 4-8,5. Kemudian semua cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Sifat antibakteri pada berbagai pH ekstrak dinyatakan sebagai diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumur dan diukur menggunakan kaliper (Balouiri *et. al.*, 2016).

### **Pengujian Efek Kandungan Garam Terhadap Sifat Antibakteri Ekstrak**

Sebanyak 500  $\mu$ l biakan bakteri uji dengan jumlah koloni sebanyak  $10^7$  CFU/ml dipipet dan dipindahkan pada permukaan medium NA beku pada cawan petri. Biakan bakteri tersebut disebarakan secara merata pada seluruh permukaan medium. Kemudian pada medium tersebut dibuat sumur berdiameter 6 mm dengan cara melobangi medium dengan menggunakan tips diameter 6 mm. Masing-masing sumur dimasukkan 10% ekstrak etanol daun akway sebanyak 60  $\mu$ l yang mengandung garam sodium klorida sesuai dengan perlakuan, yaitu 0-5% (b/v). Kemudian cawan petri dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway dinyatakan sebagai diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumur dan diukur menggunakan kaliper (Balouiri *et al.*, 2016).

### **Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), yang terdiri dari perlakuan konsentrasi ekstrak, yaitu 0, 5, 10, 15, 20 dan 25%, lama pemanasan ekstrak pada suhu 100°C selama 0, 5, 10, 15, 20 dan 25 menit, pH ekstrak 4, 5, 6, 7 dan 8,5 serta kandungan garam ekstrak sebesar 0, 1, 2, 3, 4 dan 5%. Masing-masing perlakuan tersebut diujikan terhadap pertumbuhan dua kelompok bakteri, yaitu *S. aureus* dan *B. cereus* dengan masing-masing perlakuan dilakukan dengan ulangan sebanyak 3 kali.



## Analisis Data

Data hasil pengamatan dari penelitian ini dianalisis menggunakan analisis ragam dengan tingkat kepercayaan 5%. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ) dengan  $\alpha=0,05$ . Data hasil analisis ditampilkan dalam bentuk tabel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Efek Konsentrasi Terhadap Sifat Antibakteri Ekstrak

Pengujian efek konsentrasi ekstrak etanol daun akway terhadap sifat antibakterinya dilakukan pada konsentrasi ekstrak 0-25%. Data hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun akway pada konsentrasi 5-25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, yaitu *B. cereus* dan *S. aureus*. Ekstrak etanol daun akway pada konsentrasi 5-25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* masing-masing dengan zona penghambatan 9.95-18.50 mm dan 8.15-21.98 mm (Tabel 1).

Tabel 1. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Akway Pada Beberapa Tingkat Konsentrasi

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
0	9.95±0,20 <sup>a</sup>	8.15±0,15 <sup>a</sup>
5	12.85±1,00 <sup>ab</sup>	15.08±0,43 <sup>b</sup>
10	13.53±0,93 <sup>ab</sup>	18.20±0,20 <sup>bc</sup>
15	16.93±0,08 <sup>bc</sup>	21.05±0,15 <sup>c</sup>
20	17.55±0,05 <sup>c</sup>	21.98±0,78 <sup>c</sup>
25	18.50±0,15 <sup>c</sup>	19.55±0,15 <sup>c</sup>
Penicilin G (10%)	19.25±0,95	59.70±1.00

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan perlakuan berbeda nyata pada BNJ  $\alpha=0,05$ .

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun akway berpengaruh nyata terhadap diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun akway cenderung semakin besar dengan bertambahnya konsentrasi. Peningkatan zona hambat ekstrak dengan meningkatnya konsentrasi juga ditemukan pada ekstrak etanol *Curcuma longa* pada konsentrasi 2,5-30% (Singh *et al.*, 2017) dan ekstrak etanol daun *Quercus infectoria* konsentrasi 1-5% (Shariatifar *et al.*, 2014).

Peningkatan zona hambat tersebut disebabkan peningkatan komponen bioaktif yang bersifat antibakteri dalam ekstrak etanol daun akway dengan meningkatnya konsentrasi yang digunakan. Menurut Seow *et al.*, (2014), daya hambat ekstrak bergantung pada konsentrasi yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan cenderung meningkatkan sifat antibakteri karena semakin tinggi kandungan komponen antibakteri yang berdifusi dalam medium agar.



Tabel 1 juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun akway dapat menghambat pertumbuhan *B. cereus* ATCC ATCC10876 yang merupakan galur bakteri yang resisten terhadap beberapa antibiotik (ARDB, 2009). Hasil tersebut membuktikan bahwa ekstrak etanol daun akway berpotensi digunakan sebagai sumber antibakteri alami untuk menghambat bakteri Gram positif yang resisten terhadap antibiotik.

### KHM Ekstrak

KHM ekstrak merupakan konsentrasi ekstrak minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam suatu medium. Hasil pengujian menunjukkan bahwa KHM ekstrak etanol daun akway terhadap Bakteri uji adalah sebesar 0.69-0.78%. (Tabel 2.). Nilai KHM ekstrak etanol akway lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etanol *Carica papaya* terhadap *S. aureus*, yaitu sebesar 10% (Alabi *et al.*, 2012) dan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* terhadap *B. cereus*, yaitu sebesar 12.5% (Mardiana dan Handayani, 2016).

Tabel 2. KHM Ekstrak Etanol Daun Akway

Galur Bakteri	Persamaan Regresi linear	KHM (%)
<i>B. cereus</i>	$Y = 71.76X - 81.70, R^2 = 0.89$	0.78
<i>S. aureus</i>	$Y = 128.51X - 130.66, R^2 = 0.98$	0.69

Seperti yang terlihat pada Tabel 2. konsentrasi hambat minimum ekstrak yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan *B. cereus*, yaitu sebesar 0.78% lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi hambat minimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, yaitu 0.69%. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri *B. cereus* lebih tahan terhadap ekstrak etanol daun akway dibandingkan dengan *S. aureus*. Ketahanan *B. cereus* terhadap ekstrak etanol daun akway diduga disebabkan bakteri ini disamping merupakan galur resisten terhadap beberapa jenis antibiotik (ARDB, 2009), bakteri ini juga memiliki kemampuan untuk memproduksi matriks biofilm (Majed *et al.*, 2016). Menurut Theron dan Lues (2011), bakteri yang dapat memproduksi matriks biofilm pada permukaan sel lebih tahan terhadap senyawa antibakteri.

### Efek Pemanasan Terhadap Sifat Antibakteri Ekstrak

Pengujian pengaruh pemanasan pada suhu 100°C selama 0-25 menit bertujuan untuk mengetahui stabilitas komponen antibakteri yang terdapat dalam ekstrak etanol daun akway. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun akway yang dipanaskan pada suhu 100°C sampai waktu 5 menit dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* masing-masing dengan zona hambat 13.95-14.55 mm dan 13.15-14.05 mm (Tabel 3).

Tabel 3. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pada Beberapa Tingkat Waktu Pemanasan

Waktu Pemanasan Pada 100°C (Menit)	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
0	13.95±0,95	13.85±0,25
5	14.40±0,35	14.05±0,95
10	14.18±0,83	14.05±0,95



15	14.23±0,23	13.35±0,00
20	14.50±0,50	13.55±1,20
25	14.55±0,55	13.15±0,40

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan panas pada suhu 100°C selama 25 menit tidak berpengaruh nyata terhadap sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa komponen antibakteri penyusun ekstrak etanol daun akway stabil terhadap pemanasan pada suhu 100°C selama 25 menit. Stabilitas ekstrak terhadap perlakuan panas juga ditemukan pada ekstrak etanol *Coriandrum sativum* dan *Panax ginseng*. Komponen antibakteri dalam ekstrak etanol *Panax ginseng* stabil pada pemanasan 100°C selama 60 menit (Na *et al.*, 2018) sedangkan senyawa antibakteri ekstrak etanol *Coriandrum sativum* tahan terhadap pemanasan pada suhu 100°C selama 30 menit (Cao *et al.*, 2012). Komponen antibakteri penyusun ekstrak etanol daun akway tahan terhadap pemanasan pada suhu 100°C sehingga dapat digunakan sebagai pengawet pangan yang diolah dengan pemanasan pada suhu 100°C.

#### Efek pH Terhadap Sifat Antibakteri Ekstrak

Kajian pengaruh pH ekstrak etanol daun akway terhadap aktivitas antibakterinya dilakukan pada selang pH pertumbuhan bakteri, yaitu pH 4-8.5. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pH 6-7 merupakan pH ekstrak dengan aktivitas penghambatan yang paling rendah, yaitu 10.75-11.20 mm (Tabel 4). Hasil analisis varians menunjukkan bahwa perlakuan tingkat keasaman (pH) tidak berpengaruh nyata terhadap sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway.

Tabel 4. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pada Beberapa Tingkat Keasaman Ekstrak (pH)

Tingkat Keasaman Ekstrak (pH)	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
4	12.59±0,09	12.21±0,34
5	11.40±0,15	11.10±0,35
6	11.05±0,05	10.75±0,00
7	11.20±0,00	11.00±0,00
8,5	12.28±0,28	14.09±0,09

Meskipun hasil analisis ragam menunjukan bahwa perlakuan pH terhadap ekstrak tidak berpengaruh nyata terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Namun demikian penurunan pH ekstrak cenderung meningkatkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Penurunan pH ekstrak dari pH 6-7 menjadi pH 4 meningkatkan zona hambat dari 10.75-11.20 mm menjadi 12.21-12.59 mm sedangkan peningkatan pH ekstrak menjadi 8.5 menghasilkan zona hambat paling besar terhadap pertumbuhan bakteri, yaitu 12.8-14.09 mm. Peningkatan zona hambat dengan menurunnya pH juga ditemukan pada ekstrak etanol *rosemary* (Campo *et al.*, 2000), ekstrak etanol daun *Carica papaya* (Romasi *et al.*, 2011) dan ekstrak etilasetat kulit kayu *Drimys piperita* (Cepeda *et al.*, 2015).





Penurunan pH ekstrak etanol daun akway cenderung meningkatkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri diduga konsentrasi  $[H^+]$  yang tinggi dapat menurunkan pH internal sel bakteri dan berdampak pada terganggunya makromolekul sel seperti protein dan enzim serta dapat menyebabkan kerusakan membran sitoplasma sel (Ray, 2004). Kerusakan membran sitoplasma dapat mempermudah difusi senyawa-senyawa antibakteri ke dalam sel dan mengganggu aktivitas metabolisme sel bakteri (Alakomi *et al.*, 2000).

### Efek Kandungan Garam Terhadap Sifat Antibakteri Ekstrak

Pengujian dampak konsentrasi garam sodium klorida ekstrak etanol daun akway terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan pada selang konsentrasi 0-5%. Pengujian ini memiliki tujuan untuk mengetahui efek sinergis konsentrasi garam terhadap sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi sodium klorida 0-5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* masing-masing dengan zona hambat sebesar 11.64-12.00 mm dan 11.70-11.88 mm (Tabel 5).

Tabel 5. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pada Beberapa Tingkat Kandungan Garam

Kandungan Garam Ekstrak (%)	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
0	12.00±0,00	11.88±0,13
1	11.66±0,01	11.73±0,00
2	11.65±0,00	11.70±0,03
3	11.70±0,05	11.71±0,01
4	11.64±0,01	11.79±0,09
5	11.74±0,11	11.75±0,05

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi sodium klorida sebesar 0-5% tidak menghasilkan pengaruh yang nyata terhadap sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa konsentrasi sodium klorida sampai dengan 5% tidak meningkatkan kemampuan ekstrak menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *S. aureus*. Penambahan sodium klorida sampai dengan konsentrasi 5% tidak berdampak sinergis terhadap sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway. Hal ini diduga konsentrasi sodium klorida sebesar 5% merupakan besaran konsentrasi yang berada dalam batas toleransi pertumbuhan bakteri uji. Bakteri *B. cereus* dilaporkan dapat tumbuh pada konsentrasi sodium klorida < 7% (Pexara dan Govaris, 2010) sedangkan *S. aureus* merupakan bakteri halofilik yang dapat bertumbuh pada konsentrasi sodium klorida yang tinggi, yaitu sebesar 15% (Kadariya *et al.*, 2014).



## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun akway dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B cereus* dan *S. aureus* masing-masing dengan KHM sebesar 0.78% dan 0.69%. Sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway meningkat dengan meningkatnya konsentrasi yang digunakan. Perlakuan pemanasan pada suhu 100°C sampai dengan waktu 25 menit, pH ekstrak 4-8,5 dan konsentrasi garam 5% tidak memiliki pengaruh yang nyata terhadap sifat antibakteri ekstrak etanol daun akway. Ekstrak etanol daun akway berpotensi digunakan sebagai bahan tambahan pangan yang bersifat antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah EM. 2011. Plants: An Alternative Source for Antimicrobials. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 1(6) : 16-20.
- Alabi OA, Muyideen TH, Chinedu PA, Tomisin J, Harrison A, Okegbe VU, Babatunde EE. 2012. Comparative Studies on Antimicrobial Properties of Extracts of Fresh and Dried Leaves of *Carica papaya* (L) on Clinical Bacterial and Fungal Isolates. *Advances in Applied Science Research*. 3(5):3107-3114.
- Alakomi HL, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T. 2000. Lactic Acid Permeabilizes Gram-negative Bacteria by Disrupting the Outer Membrane. *Applied Environmental Microbiology*. 66: 2001-2005.
- ARDB. 2009. Antibiotic Resistance Data Base: *Bacillus cereus*. Center for Bioinformatic and Computational: Biology University of Maryland college Park MD20742.
- Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2):71-79.
- Bloomfield S. 1991. Methods for Assesing Antimicrobial Activity. In S. P. Denyer and H. B. Hugo, Mechanism of Action of Chemical Biocides their Study and Exploitation. London: Scientific Publication.
- Campo JD, Amiot MJ, Nguyen-The C. 2000. Antimicrobial Effect of Rosemary Extracts. *Journal of Food Protection*. 63: 1359-1368.
- Cao XZ, You JM, Lin XS, Zhang YL. 2012. Antimicrobial Activity of the Extracts from *Coriandrum sativum*. *International Journal of Food Nutrition and safety*, 1(2), 54-59.
- Carroll LM, Wiedmann M, Mukherjee M, Nicholas DC, Mingle LA, Dumas NB, Cole JA, Kovac J. 2019. Characterization of Emetic and Diarrheal *Bacillus cereus* Strains From a 2016 Foodborne Outbreak Using Whole-Genome Sequencing: Addressing the Microbiological, Epidemiological, and Bioinformatic Challenges. *Frontiers in Microbiology*, 10(144): 1-20.
- Cepeda GN, Hariyadi RD, Supar. 2012. Penghambatan Ekstrak Etanol Sereh (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) terhadap Produksi Verotoksin *Escherichia coli* Verotoksigenik. *Jurnal Natur Indonesia*, 13(1): 72-



- Cepeda GN, Lisangan MM, Silamba I. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway (*Drimys piperita* Hook f.) terhadap bakteri patogen. *Agritech* 35(2): 170-177.
- Cepeda GN, Lisangan MM, Silamba I. 2019. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Kayu Akway (*Drimys piperita* Hook. f.) pada Beberapa Tingkat Konsentrasi, Keasaman (pH) dan Kandungan Garam. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 8 (4): 149-154.
- Cepeda GN, Lisangan MM, Roreng MK, Permatasari EI, Manalu DC, Tainlain W. 2018. Aktivitas Penangkalan Radikal Bebas dan Kemampuan Reduksi Ekstrak Kulit Kayu Akway (*Drimys piperita* Hook. f.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 7(4):168-173.
- Cepeda GN, Santoso BB, Lisangan MM, Silamba I. 2011a. Komposisi Kimia Minyak Atsiri Kulit Kayu Akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Bionatura*, 13(2): 118-124.
- Cepeda GN, Santoso BB, Lisangan MM, Silamba I. 2011b. Komposisi Kimia Minyak Atsiri Daun Akway. *Makara Sains*, 15(1): 63-66.
- Da Silva AC, Lopes PM, De Azevedo MM, Costa DC, Alviano CS, Alviano DS. 2012. Biological Activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene Enantiomer. *Molecules*, 17: 6305-6316.
- Grace US, Sankari M, Gopi. 2017. Antimicrobial Activity of Ethanolis Extract of *Zingiber officinale*- An In Vitro Study. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(9): 1417-1419.
- Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. 2014. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *BioMed Research International*, 2014:1-9.
- Kowti R, Harsha R, Mohammed GA, Hareesh AR, Thammanna GSS, Dinesha R, Satish KBP, Irfan AM. 2010. Antimicrobial Activity of Ethanol Extract of Leaf and Flower of *Spathodea campanulata* P. Beauv. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 1(3): 691-698.
- Majed R, Faille C, Kallasy M, Gohar M. 2016. *Bacillus cereus* Biofilm-Same, Only Different. *Frontiers in Microbiology* 7 : 1054 (1-16).
- Mardiana RN, Handayani N. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambilotto (*Andrographis paniculata*) Terhadap *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofarmasi*, 14 (1): 19-24.
- Mostafa AA, Al-Askar AA, Almaary KS, Dawoud TM, Sholkamy EN, Bakri MM. 2018. Antimicrobial Activity of Some Plant Extracts against Bacterial Strains Causing Food Poisoning Diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2) : 361–366.
- Na S, Kim JH, Rhee YK, Oh SW. 2018. Enhancing the Antimicrobial Activity of Ginseng against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* by Heat Treatment. *Food Science and Biotechnology*, 27(1): 203–210.
- Pexara A, Govaris A. 2010. *Bacillus cereus*: an Important Foodborne Pathogen. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 61(2): 127-133.
- Ray B. 2004. *Fundamental Food Microbiology* 3th edn. CRC Press, New York.



- Romasi EF, Karina J, Parhusip AJN. 2011. Antibacterial Activity of Papaya Leaf Extracts against Pathogenic Bacteria. *Makara Seri Teknologi*. 15(2): 173-177.
- Seow YX, Yeo CR, Chung HL, Yuk HG. 2014. Plant Essential Oils as Active Antimicrobial Agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54: 625-644.
- Shariatifar N, Fathabad AE, Khaniki GJ, Nasrabadi HG. 2014. Evaluation of the Antibacterial Activity of Essential Oil and Aqueous and Ethanolic Extracts of *Quercus infectoria* Leaves on Food-borne Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 5 (10) : 709-713.
- Silva VA, Sousa JP, Guerra FQ, Pessôa HLF, Freitas AFR, Alves LBN, Lima EO. 2015. Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* Essential Oil and Linalool on Bacterial Isolates of Clinical Importance. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 7(6): 1066-1071.
- Singh N, Gupta S, Rathore V. 2017. Comparative Antimicrobial Study of Ethanolic Extract of Leaf and Rhizome of *Curcuma longa* Linn. *Pharmacognosy Journal*, 9(2): 208-212.
- Sholihah I, Trisharyanti DK. 2017. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract and Infusion of *Bauhinia variegata* Leaves Against *Streptococcus pyogenes*. *Pharmacon* 18: 1-7.
- Tewari A, Abdullah S. 2015. *Bacillus cereus* Food Poisoning: International and Indian Perspective. *Journal of Food Science and Technolgy*, 52(5):2500–2511.
- Theron MM, Lues JFR.. 2011. *Organic Acids and Food Preservation*. CRC Press, USA.
- Wang W, Li N, Luo M, Zu Y, Efferth T. 2012. Antibacterial Activity and Anticancer Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil compared to that of its Main Components. *Molecules*, 17: 2704-2713.
- Zakariyah M, Cepeda GN, Hutasoit H. 2019. Sifat Fisik, Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Minyak Essensial Kulit Batang Akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Jurnal Agritechnology* 1(2) : 56-65.