

AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT KULIT KAYU AKWAY (*Drimys piperita* Hook. f.) DALAM KALDU DAGING SAPI SELAMA PENYIMPANAN

ANTI BACTERIAL ACTIVITY OF ETHYLACETATE EXTRACT OF AKWAY (*Drimys piperita* Hook. f.) BARK IN BEEF BROTH DURING STORAGE

Gino Nemesio Cepeda^{*)}, Meike Meilan Lisangan, Isak Silamba, Eka Sartika

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian dan Teknologi Pertanian, Universitas Negeri Papua
Jl. Gunung Salju Amban, Kode Pos 98314, Manokwari Papua Barat
E-mail : ginocepeda@yahoo.com

Makalah: Diterima 10 Desember 2014; Diperbaiki 11 Juni 2015; Disetujui 30 Juni 2015

ABSTRACT

Akway (Drimys piperita Hook.f.) is the woody, evergreen and aromatic plant that has been used for medical purpose to heal malaria and enhance vitality by Sougb tribe in Sururey village, District of Manokwari. The Previous study indicated that ethylacetate extract of D. piperita had stronger antibacterial activities than ethanol and hexane extracts. The objectives of this research were to determine antibacterial activities of akway bark extract on some concentrations, minimum inhibitory concentration (MIC) and effect of MIC on bacterial growth in beef broth during storage. Antibacterial activity assay was done using agar diffusion and broth dilution method. The results indicated that antibacterial capacity of extract increased with the concentration. MICs of extract to tested bacteria varied from 0.25% to 0.55%. Extract concentration of 0.5 MIC (0.25%) inhibited bacterial growth in beef broth up to 20 days during room temperature storage while in refrigerator no growth identified up to 48 days. On the other hand, untreated beef broth stored in room temperature showed bacterial growth of 4.56 log cfu/mL in 12 hours whereas in refrigerator bacterial growth identified was 2.17 cfu/mL for 24 days storage.

Keywords : antibacterial, Drimys piperita, extract,

ABSTRAK

Akway (*Drimys piperita* Hook f.) adalah tumbuhan berkayu, berdaun hijau aromatik, digunakan oleh Suku Sougb yang bermukim di desa Sururey Distrik Manokwari, untuk mengobati malaria dan meningkatkan vitalitas tubuh. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat *D. piperita* memiliki aktivitas anti bakteri yang lebih kuat dari ekstrak etanol dan heksan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas anti bakteri ekstrak etil asetat kulit kayu akway pada beberapa tingkat konsentrasi, konsentrasi hambat tumbuh minimum (KHTM) dan pengaruh KHTM terhadap pertumbuhan bakteri dalam kaldu daging sapi selama penyimpanan. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas anti bakteri ekstrak meningkat dengan meningkatnya konsentrasi. KHTM ekstrak terhadap bakteri uji sebesar 0,25%-0,55%. Konsentrasi ekstrak sebesar 0,5 KHTM (0,25%) dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam kaldu daging sapi sampai 20 hari penyimpanan pada suhu ruang sedangkan pada penyimpanan pada *refrigerator* tidak terjadi pertumbuhan bakteri sampai 48 hari penyimpanan. Di sisi lain, kaldu daging sapi tanpa penambahan ekstrak pada penyimpanan 12 jam terjadi pertumbuhan bakteri sebesar 4,56 cfu/mL sedangkan kaldu yang disimpan pada *refrigerator* pertumbuhan bakteri sebesar 2,78 cfu/mL terjadi setelah penyimpanan selama 24 hari.

Kata kunci : anti bakteri, *Drimys piperita*, ekstrak

PENDAHULUAN

Pertumbuhan mikroba dalam pangan memberikan dampak pada kerusakan pangan dan meningkatkan risiko penularan penyakit melalui pangan yang dikonsumsi. Kontaminasi mikroba dalam pangan dapat menyebabkan perubahan flavor, tekstur, warna dan kerusakan gizi dalam pangan tersebut. Untuk mencegah kerusakan-kerusakan tersebut penggunaan bahan tambahan pangan sebagai pengawet pangan telah dilakukan secara luas baik oleh pengolah-pengolah pangan secara tradisional maupun oleh industri-industri pangan.

Penggunaan bahan pengawet kimia di dalam pangan lebih sering digunakan karena lebih mudah diperoleh dan lebih praktis diaplikasikan. Namun demikian dengan meningkatnya tuntutan konsumen akan produk pangan yang menggunakan pengawet alami menyebabkan meningkatnya kajian-kajian ilmiah untuk mendapatkan bahan pengawet alami pangan khususnya yang berasal dari tumbuhan.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan ekstrak tumbuhan yang berpotensi digunakan sebagai sebagai pengawet alami pangan. Moreno *et al.* (2006) melaporkan bahwa ekstrak

rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) memiliki daya antimikroba yang kuat terhadap bakteri Gram negatif maupun Gram positif. Ekstrak daun sirih (*Piper betel* L.) dapat menghambat bakteri patogen *Vibrio cholerae*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* dalam medium agar (Hoque *et al.*, 2011).

Akway (*Drimys piperita* Hook. f) merupakan tumbuhan endemik Papua, yang termasuk dalam kelompok tumbuhan berkayu, berdaun tebal aromatik dan termasuk kerabat *Winteraceae*. Akway merupakan tumbuhan yang dapat ditemukan di dataran tinggi Papua, khususnya di Pegunungan Arfak. Akway tersebar di hutan dataran tinggi yang memiliki suhu 15-16°C, kelembaban 93% dengan ketinggian 1170-2700 m dpl (Ullo, 2008). Tumbuhan ini dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat setempat untuk mengobati malaria dan untuk meningkatkan daya tahan tubuh atau meningkatkan stamina dalam melakukan pekerjaan berat, serta untuk meningkatkan vitalitas tubuh (Paliling, 2004).

Ekstrak etanol akway (*Drimys piperita* Hook f.) dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* verotoksigenik di dalam medium agar (Cepeda, 2008). Minyak atsiri daun dan kulit kayu akway dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* (Cepeda *et al.*, 2013). Ekstrak etil asetat kulit kayu akway menunjukkan aktivitas anti bakteri yang lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol dan heksan terhadap *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus* (Cepeda *et al.*, 2013).

Kemampuan ekstrak tumbuhan menghambat pertumbuhan bakteri bergantung pada komponen penyusun pangan. Menurut Higginbotham *et al.* (2014), konsentrasi senyawa antimikroba yang lebih tinggi dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dalam sistem pangan dibandingkan dengan media mikrobiologik. Sistem pangan mengandung karbohidrat, protein dan lemak yang akan mengganggu aktivitas antimikroba ekstrak. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa komponen pangan, yaitu lemak dan protein dapat menurunkan aktivitas antimikroba ekstrak tumbuhan. Campo *et al.* (2000) melaporkan bahwa daya antimikroba ekstrak *rosemary* hilang dengan adanya protein dan lemak. Ekstrak *Camellia japonica* bersifat bakterisidal terhadap *Salmonella typhimurium*, *E. Coli* O157H7 dan *Listeria monocytogenes* pada medium agar, namun pengujian aktivitas anti bakteri ekstrak tersebut pada susu, hanya bisa memperpanjang fase lag pertumbuhan bakteri tersebut (Kim *et al.*, 2001).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas anti bakteri ekstrak etil asetat kulit kayu akway pada kaldu daging sapi selama penyimpanan. Kaldu daging sapi dipilih sebagai model sistem pangan yang merupakan sumber protein dan lemak

serta merupakan pangan yang mudah mengalami kerusakan mikrobiologik selama penyimpanan.

METODE PENELITIAN

Persiapan Bahan Penelitian

Penelitian ini dimulai dari persiapan bahan penelitian utama, yaitu tumbuhan akway yang diperoleh dari Kampung Sururey, Distrik Anggi, Kabupaten Pegunungan Arfak Provinsi Papua Barat. Pohon akway yang digunakan adalah pohon dengan diameter batang utama kurang lebih 10 cm. Batang pohon akway dibersihkan bagian kulit terluar sampai terlihat kulit bagian dalam yang berwarna merah kecoklatan. Kulit bagian dalam tersebut dikuliti dengan menggunakan pisau memisahkan kulit kayu dari batangnya. Kulit kayu yang berwarna merah kecoklatan tersebut siap dikeringkan.

Pengeringan dan Penggilingan

Kulit kayu yang diperoleh dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang sampai kadar air 10-12%. Kulit kayu yang sudah kering digiling dengan menggunakan *grinder* dan diayak dengan ayakan berukuran 30 mesh. Bubuk kulit kayu akway yang diperoleh dikemas dalam kemasan plastik dengan berat bubuk akway ± 1 kg tiap kemasan.

Ekstraksi dan Evaporasi

Proses ekstraksi komponen bioaktif bubuk kulit kayu akway dilakukan dengan metode maserasi dengan perbandingan bubuk dan etil asetat sebesar 1:4. Proses ekstraksi dilakukan pada suhu kamar selama 72 jam. Selama proses ekstraksi dilakukan pengadukan dengan menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 60 rpm. Setelah proses ekstraksi selesai campuran bubuk dan pelarut disaring dengan menggunakan penyaring vakum. Ekstrak yang diperoleh dari hasil penyaringan, dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* Eyela N1000 pada suhu 40°C dengan kecepatan 60 rpm. Ekstrak pekat dimasukkan dalam botol yang berwarna gelap sebelum digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba.

Persiapan Kultur Bakteri

Kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Vial isolat kultur uji dibuka secara aseptik, kemudian ditambahkan *nutrient broth* (NB) sebanyak 0,5 mL dan diaduk hingga tercampur sempurna. Campuran kultur dan medium NB dipipet dan dipindahkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 mL NB dan diaduk dengan menggunakan vorteks. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur yang telah tumbuh dalam medium NB digores pada medium agar miring *nutrint agar*

(NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah terlihat pertumbuhan bakteri pada agar miring, kultur bakteri tersebut disimpan dalam *refrigerator* sampai digunakan dalam pengujian.

Pengujian Aktivitas Anti bakteri pada Beberapa Konsentrasi Ekstrak

Pengujian aktivitas anti bakteri ekstrak akway dalam kaldu daging sapi dilakukan berdasarkan nilai KHTM. Pengujian ini dilakukan dengan metode modifikasi Elzaawely *et al.* (2005) dimana kertas saring ukuran diameter 6 mm diganti dengan sumur dengan diameter 6 mm. Sebanyak 500 µL kultur bakteri uji (10^7 cfu/mL), yang telah ditumbuhkan dalam medium NB pada suhu 37°C selama 20 jam, disebarakan 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), 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 jangka sorong.

Penentuan KHTM

Penentuan nilai KHTM dilakukan berdasarkan daya hambat ekstrak etil asetat pada beberapa tingkat konsentrasi. KHTM ditentukan dengan menggunakan metode Bloomfield (1991), yaitu dengan membuat regresi linear antarln M (ln konsentrasi ekstrak) pada sumbu X terhadap nilai kuadrat zona penghambatan ekstrak akway terhadap bakteri uji (Z^2) pada sumbu Y. Perpotongan antara persamaan yang diperoleh dari regresi linear $Y = a + bX$ dengan sumbu X pada $Y = 0$ merupakan nilai Mt. Mt adalah nilai ln konsentrasi ekstrak pada perpotongan persamaan regresi linear dengan sumbu X. Nilai KHTM adalah $0,25 \times$ nilai konsentrasi ekstrak pada titik Mt (e^{Mt}).

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

Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter Zona Penghambatan (mm) Bakteri uji			
	<i>E. coli</i>	<i>B. Cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
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

Nilai yang diikuti dengan notasi yang berbeda menunjukkan perlakuan berbeda nyata dengan uji Beda Nyata Jujur pada $\alpha = 0,05$.

Pengujian Daya Antimikroba Ekstrak dalam Kaldu Daging Sapi

Pengujian daya antimikroba ekstrak dalam kaldu daging sapi dimulai dari persiapan pembuatan kaldu daging sapi. Sebanyak 500 g daging sapi giling ditambahkan 1000 mL air kemudian dimasak sampai mendidih selama 30 menit. Setelah itu campuran tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring untuk mendapatkan kaldunya.

Kaldu sebanyak 25 mL dimasukkan dalam erlenmeyer 50 mL kemudian ditambahkan ekstrak akway dengan perlakuan konsentrasi : Kontrol, 0,5 x KHTM, 1 x KHTM dan 1,5x KHTM kemudian disimpan pada dua kondisi penyimpanan, yaitu pada suhu kamar dan *refrigerator*. Waktu pengamatan untuk penyimpanan pada suhu ruang dilakukan selama 22 hari dengan selang waktu pengamatan 0,5-2 hari sedangkan untuk penyimpanan pada *refrigerator* dilakukan selama 60 hari dengan selang waktu pengamatan 3-6 hari. Penghitungan jumlah bakteri di dalam kaldu daging sapi selama penyimpanan dilakukan dengan menggunakan metode *aerobic plate count* (APC).

Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengujian aktivitas anti bakteri pada beberapa konsentrasi dianalisis dengan menggunakan anova rancangan acak kelompok (RAK) pada taraf uji 95%. Hasil analisis yang menunjukkan perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ 0,05).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Anti bakteri pada Beberapa Tingkat Konsentrasi

Hasil pengujian daya hambat ekstrak etil asetat kulit kayu akway pada konsentrasi 0-25% (b/v) menunjukkan bahwa ekstrak dapat menghambat pertumbuhan semua bakteri uji. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berpengaruh nyata terhadap aktivitas anti bakterinya pada taraf uji 95% (Tabel 1.)

Kemampuan ekstrak akway dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji disebabkan oleh senyawa-senyawa anti bakteri yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Ekstrak etil asetat kulit kayu akway dilaporkan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan terpenoid (Cepeda, 2008). Jenis senyawa terpenoid yang terdapat dalam kulit kayu akway (Cepeda *et al.*, 2011). Senyawa-senyawa tersebut diduga merupakan senyawa-senyawa yang berperan sebagai anti bakteri di dalam ekstrak tersebut. Senyawa-senyawa tersebut telah dilaporkan memiliki daya anti bakteri dan anti jamur yang kuat (Chang *et al.*, 2008; Mercier *et al.*, 2009).

Senyawa-senyawa anti bakteri dalam ekstrak akway yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri diduga adalah senyawa terpen dan senyawa fenolik. Senyawa terpen α -pinen dan β -pinen serta senyawa fenolik menyebabkan peningkatan fluiditas membran dan menghambat aktivitas enzim-enzim dalam membran sel bakteri (Mercier *et al.*, 2009; Rhon *et al.*, 2002). Peningkatan fluiditas membran dan inaktivasi enzim-enzim dalam membran akan mengganggu permeabilitas membran, pembentukan energi dalam membran, transport zat terlarut, regulasi metabolisme dan pengendalian tekanan turgor sel. Perubahan-perubahan tersebut akan menyebabkan keseluruhan proses metabolisme dalam sel bakteri terganggu dan bisa menyebabkan kematian sel (Trumpower *et al.*, 1994).

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit kayu akway dapat menghambat pertumbuhan semua bakteri uji. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas anti bakteri dengan spektrum yang luas. Disamping itu juga ekstrak etil asetat kulit kayu akway dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* ATCC27853 yang merupakan bakteri yang resisten terhadap penicillin karena memiliki enzim beta lactamase yang dapat menghidrolisis cicin β -lactam di dalam senyawa penicillin (ARDB, 2009b). Pada konsentrasi ekstrak etil asetat kulit kayu akway sebesar 10% menghasilkan diameter zona penghambatan terhadap pertumbuhan *P. aeruginosa* sebesar 12,40 mm sedangkan pada konsentrasi yang sama, penicillin G tidak bisa menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Hal yang serupa juga terjadi pada penghambatan pertumbuhan bakteri *B. cereus* ATCC10876 dimana konsentrasi

10% ekstrak kulit kayu akway dapat menghambat pertumbuhan *B. cereus* dengan diameter zona penghambatan sebesar 16,05 mm sedangkan pada konsentrasi yang sama Penicillin G hanya dapat menghambat bakteri tersebut dengan diameter penghambatan sebesar 13,5 mm. Bakteri *B. cereus* lebih tahan terhadap Penicillin G dibandingkan dengan ekstrak kulit kayu akway pada konsentrasi yang sama. Ketahanan tersebut disebabkan oleh kemampuan *B. cereus* memompa senyawa penicillin keluar sel (*multidrug resistance efflux pump*) (ARDB, 2009a). Kemampuan ekstrak kulit kayu akway dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut menunjukkan ekstrak akway berpotensi digunakan sebagai sumber senyawa anti bakteri alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang tahan terhadap antibiotik.

Penentuan KHTM Ekstrak Etil asetat Kulit Kayu Akway

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

KHTM ekstrak etil asetat tersebut relatif lebih kecil dibandingkan dengan beberapa penelitian tentang ekstrak tumbuhan lainnya terhadap bakteri tersebut. KHTM 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 *et al.*, 2007) dan ekstrak air bawang putih sebesar 0,6-1,8% (Durairaj *et al.*, 2009). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit kayu akway memiliki potensi untuk digunakan sebagai sumber senyawa anti bakteri karena dengan konsentrasi yang lebih kecil sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Tabel 2 juga menunjukkan bahwa nilai KHTM paling rendah, yaitu sebesar 0,25% sudah dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* yang merupakan bakteri yang resisten terhadap penicillin G. Hal ini menunjukkan bahwa *P. aeruginosa* lebih rentan terhadap ekstrak etil asetat akway dibandingkan dengan bakteri uji lainnya. Sedangkan bakteri yang paling tahan terhadap ekstrak etil asetat adalah *S. aureus*.

Tabel 2. KHTM ekstrak etil asetat kulit kayu terhadap bakteri uji

Bakteri	Regresi Linear	R ²	Mt	KHTM (%)
<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

Hal ini dapat dilihat dari nilai KHTM yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, yaitu sebesar 0,55% 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 anti bakteri yang ada dalam ekstrak etil asetat.

Daya Anti Bakteri Ekstrak Akway dalam Kaldu Daging Sapi Selama Penyimpanan pada Suhu Ruang

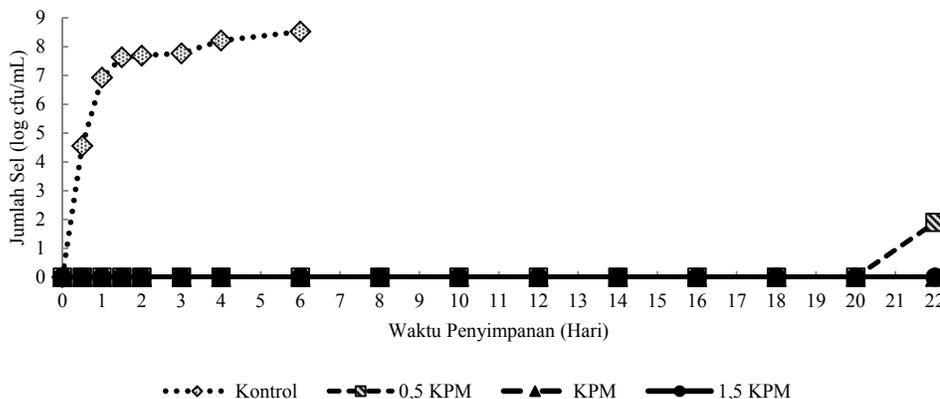
Hasil pengujian daya anti bakteri ekstrak kulit kayu akway dalam kaldu daging sapi yang disimpan pada suhu ruang menunjukkan bahwa penambahan ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat memperpanjang masa simpan kaldu daging sapi. Penambahan ekstrak sebesar 0,5 KHTM atau setara dengan konsentrasi ekstrak 0,25% (b/v) dapat memperpanjang masa simpan sampai 20 hari, sedangkan penggunaan ekstrak sebesar KHTM (0,5%) dan 1,5 KHTM (0,75%) sampai penyimpanan hari ke-22 belum terdapat pertumbuhan bakteri dalam kaldu tersebut (Gambar 1).

Kemampuan ekstrak etil asetat kulit kayu akway memperpanjang masa simpan kaldu daging sapi pada suhu ruang diduga disebabkan oleh kemampuan senyawa anti bakteri yang terkandung dalam ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri dalam kaldu daging sapi. Ekstrak etil asetat kulit kayu akway dilaporkan mengandung senyawa fenol dan flavonoid masing-masing sebesar 41,02 mg ekivalen asam galat/g dan 25,90 mg ekivalen kuersetin/g (Cepeda *et al.*, 2009) dan senyawa-senyawa terpenoid, yaitu α -pinen dan β -pinen (Cepeda *et al.*, 2011). Senyawa-senyawa tersebut telah dilaporkan memiliki daya anti bakteri yang kuat (Davidson dan Naidu, 2000; Mercier *et al.*, 2009).

Gambar 1 juga menunjukkan bahwa kaldu daging sapi pada penyimpanan 0 hari tidak mengandung bakteri namun setelah waktu penyimpanan 12 jam (0,5 hari) pada suhu ruang jumlah bakteri yang terdapat di dalam kaldu tersebut menjadi 4,56 log cfu/mL. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang tahan terhadap pemanasan dan dapat tumbuh pada kondisi lingkungan aerobik masih bertahan hidup didalam kaldu tersebut namun belum menunjukkan aktivitas pertumbuhan. Jenis bakteri tahan pemanasan tersebut diduga adalah genus *Bacillus*. Menurut Jay (2000), genus *Bacillus* sering ditemukan dalam daging sapi segar dan menyebabkan kerusakan daging tersebut. Bakteri ini dapat bertahan hidup selama proses pemasakan dengan membentuk spora yang tahan terhadap proses pemanasan (Janstova dan Lukasova, 2001).

Spora bakteri tersebut dapat bergerminasi dan berkembang menjadi sel vegetative pada suhu 37°C dengan adanya alanin dan purin (Leuschner dan Lillford, 1999; Batt, 2000). Kandungan gizi dalam kaldu daging sapi diduga dapat menunjang proses germinasi spora dan pertumbuhan sel *Bacillus sp.* Hal ini didasarkan pada pertumbuhan bakteri yang terjadi selama penyimpanan 1 hari pada suhu ruang dapat mencapai 7 log cfu/mL.

Senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat kulit kayu akway diduga hanya dapat menghambat perkembangan spora bakteri menjadi sel vegetatif (*outgrowth phase*) setelah proses germinasi terjadi. Spora yang telah bergerminasi akan kehilangan sifat resistennya terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim termasuk senyawa kimia yang bersifat anti bakteri (Setlow, 2005). Beberapa senyawa fenolik dilaporkan dapat menghambat perkembangan spora bakteri *Bacillus sp.* Senyawa fenolik *licochalcone A* hanya dapat menghambat perkembangan spora bakteri *B. subtilis* menjadi sel vegetatif (Tsukiyama *et al.*, 2002), *carvacrol* dan *thymol* hanya dapat memperpanjang fase *lag* spora *B. megaterium* (Periago *et al.*, 2006).



Gambar 1. Daya hambat ekstrak akway dalam kaldu daging sapi selama penyimpanan pada suhu kamar

Daya Anti Bakteri Ekstrak Akway dalam Kaldu Daging Sapi selama Penyimpanan dalam Refrigerator

Hasil pengujian pengaruh konsentrasi ekstrak akway terhadap pertumbuhan bakteri di dalam kaldu daging sapi selama penyimpanan dalam *refrigerator* menunjukkan bahwa ekstrak akway dapat menghambat pertumbuhan bakteri di dalam kaldu tersebut. Kaldu tanpa penambahan ekstrak (kontrol) yang disimpan dalam *refrigerator* memiliki masa simpan sampai 21 hari tanpa terjadi pertumbuhan mikroba (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa penyimpanan dalam *refrigerator* dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam kaldu. Menurut Day (2000), penyimpanan suhu rendah <8°C dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau memperpanjang waktu fase *lag*. Penghambatan pertumbuhan bakteri tersebut disebabkan oleh menurunnya laju metabolisme sel mikroba pada suhu rendah sehingga berdampak pada menurunnya sintesis protein dan enzim yang diperlukan untuk pembelahan sel (Jay, 2000).

Seperti yang terlihat juga pada Gambar 2 penggunaan ekstrak akway sebesar 0,5 KHTM (0,25%) terjadi pertumbuhan bakteri sebesar 2,17 log cfu/mL pada waktu penyimpanan 54 hari dengan demikian penggunaan ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam kaldu selama 48 hari penyimpanan dalam *refrigerator* sedangkan penggunaan ekstrak sebesar KHTM (0,5%) dan 1,5 KHTM (0,75%) sampai 60 hari penyimpanan belum menunjukkan terjadinya pertumbuhan bakteri di dalam kaldu. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak etil asetat kulit kayu akway dan penyimpanan pada *refrigerator* memiliki dampak sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri dalam kaldu.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit kayu akway memiliki potensi sebagai pengawet pangan yang dapat digunakan pada pangan yang disimpan pada suhu rendah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

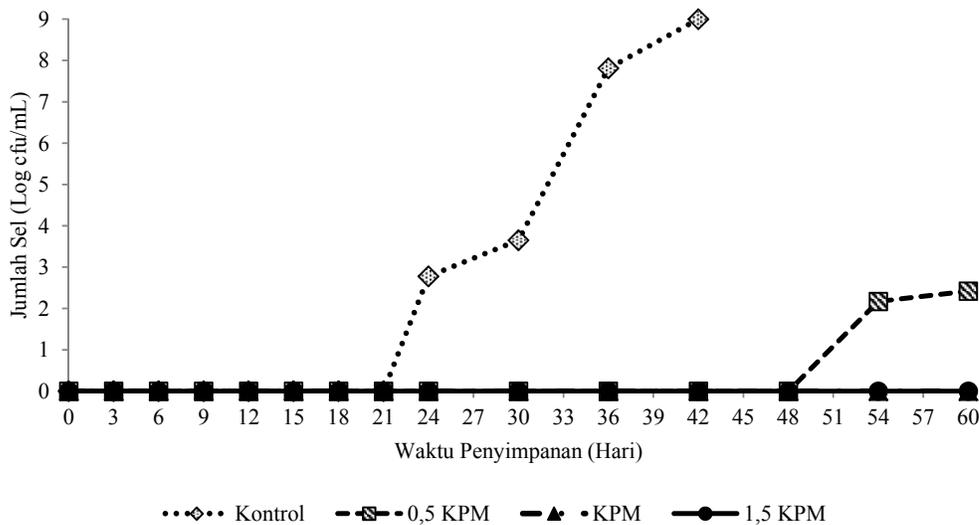
Ekstrak etil asetat kulit kayu akway dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam medium agar dan kaldu daging sapi selama penyimpanan. KHTM ekstrak etil asetat terhadap bakteri uji adalah sebesar 0,25-0,55%. Penggunaan ekstrak pada konsentrasi 0,5 x KHTM atau setara dengan 0,25% (b/v) dapat memperpanjang masa simpan kaldu daging sapi selama 20 hari pada penyimpanan suhu ruang sedangkan pada penyimpanan suhu *refrigerator* dapat memperpanjang masa simpan kaldu daging sapi selama 48 hari.

Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan untuk dilakukan karakterisasi komposisi kimia ekstrak etil asetat kulit kayu akway dari berbagai tempat tumbuh dan metode ekstraksi yang berbeda. Perbedaan tempat tumbuh dan metode ekstraksi diduga akan memberikan respon aktivitas anti bakteri yang berbeda.

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 2014.



Gambar 2. Daya hambat ekstrak akway dalam kaldu daging sapi selama penyimpanan pada *refrigerator*

DAFTAR PUSTAKA

- ARDB. 2009a. *Antibiotic Resistance Genes Database : Bacillus cereus ATCC 10876*. Center for bioinformatic and computational. Biology University of Maryland College Park MD 20742.
- ARDB. 2009b. *Antibiotic Resistance Genes Database: Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*. Center for bioinformatic and computational. Biology University of Maryland College Park MD 20742.
- Batt CA. 2000. *Bacillus cereus*. Di dalam Robinson, RK, Batt CA dan Patel PD (ed.). *Encyclopedia of Food Microbiology*, London: Academic Press.
- Bloomfield SF. 1991. Methods for assessing antimicrobial activity. Di Dalam Denyer S P, Hugo WB, (ed). *Mechanism of action of chemical biocides their study and exploitation*. London : Blackwell scientific Publication.
- Campo JD, Amiot MJ, dan Nguyen-The C. 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *J Food Protect* 63:1359-1368.
- Cepeda GN. 2008. Daya hambat akway (*Drimys piperita* Hook f.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. *Agrotek*. 1 (3) 41-50.
- Cepeda GN, Santoso BB, Lisangan MM, Silamba I. 2009. Ekstraksi senyawa antioksidan dan antimikroba akway (*Drimys piperita* Hook f.). [Laporan Penelitian Hibah Bersaing]. Universitas Negeri Papua.
- Cepeda GN, Santoso BB, Lisangan MM, Silamba I. 2011. Komposisi kimia minyak atsiri kulit kayu akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Bionatura*. 13(2) : 118-124.
- Cepeda GN, Lisangan MM, dan Silamba I. 2013. Aktivitas antimikroba ekstrak *Drimys piperita* Hook f. secara *in vitro* dan dalam model sistem pangan. [Laporan Penelitian Hibah Bersaing]. Universitas Negeri Papua.
- Chang HT, Cheng YH, Wu CL, Chang ST, Chang TT, Su YC. 2008. Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *Formosana* florin leaf against plant pathogenic fungi. *Bioresour Technol*. 99:6266-70.
- Davidson PM dan Naidu AS. 2000. Phyto-phenol. Di dalam Naidu A. S. 2000. (ed). *Natural food antimicrobial system*. New York: CRC Press.
- Day BPF. 2000. Chilled storage of food. Di dalam Robinson RK, Batt CA, dan Patel PD. (ed.). *Encyclopedia of Food Microbiology*. London: Academic Press.
- Doughari JH. 2006. Antimicrobial activity of *Tamarindus indica* Linn. *Trop J Pharm Res*. 5(2): 597-603.
- Durairaj S, Sinivasan S, Lakshmanaperumalsamy P. 2009. In vitro antibacterial activity and stability of garlic extract at different pH and temperature. *Electron J Biol*. 5(1):e5-10.
- Elzaawely AA, Xuan TD, Tawata S. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of *Rumex japonicus* Houtt. *Biol Pharm Bull*. 28 (12) : 2225-2230
- Higginbotham KL, Burris KP, Zivanovic S, Davidson PM, Stewart JRCN. 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. *J Food Protect*. 77(2):262-268.
- Hoque MM, Rattila S, Shishir MA, Bari ML, Inatsu Y, Kawamoto S. 2011. Antibacterial activity of ethanol extract of betel leaf (*Piper betle* L.) against some food borne pathogens. *Bangladesh J Microbiol*. 28(2):58-63.
- Janstova B dan Lukasova J. 2001. Heat resistance of *Bacillus spp.* spores isolated from cows milk and farm environment. *Acta Vet BRNO*. 70:179-184.
- Jay JM. 2000. *Modern Food Microbiology*. Maryland: Aspen Publisher Inc.
- Kim KY, Davidson M, dan Chung HJ. 2001. Antibacterial activity in extracts of *Camelia japonica* L. Petals and its application to a model food system. *J Food Protect*. 64:1255-1260.
- Leuschner RGK dan Lillford PJ. 1999. Effects of temperature and heat activation on germination of individual spores of *Bacillus subtilis*. *Lett In Appl Microbiol*. 29:228-232.
- Mercier B, Frost J, dan Frost M. 2009. The essential oil of turpentine and its major volatile fraction (α - and β -pinene): A review. *Int J Occupational Med Environ Health*. 22(4) : 331-342.
- Moreno S, Scheyer T, Romano CS, Vojnov AA. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Rad Res*. 40: 223-231
- Oboh IE, Akerele JO, dan Obasuyi O. 2007. Antimicrobial activity of ethanol extract of the aerial parts of *Sida acuta* Burn f. (Malvaceae). *Trop J Pharm Res*. 6(4): 809-813.
- Paliling BT. 2004. Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Obat Tradisional Oleh Masyarakat Suku Sougb Di Kampung Sururey Distrik Sururey Kabupaten Manokwari [Skripsi]. Fakultas Kehutanan Universitas Negeri Papua Manokwari

- Periago PM, Conesa R, Delgado B, Fernandez PS, Palop A. 2006. *Bacillus megaterium* spore germination and growth inhibition by a treatment combining heat with natural antimicrobials. *Food Technol Biotechnol*. 44(1): 17-23.
- Rhon S, Rawel HM, dan Kroll J. 2002. Inhibitory effects of plant phenols on the activity of selected enzymes. *J Agric Food Chem*. 50:3566-3571.
- Setlow P. 2005. The bacterial spore : Nature's survival package. *Culture*. 26(2):1-8.
- Trumpower BL dan Gennis RB. 1994. Energy transduction by cytochrome complexes in mitochondrial and bacterial respiration : the enzymology of coupling electron transfer reactions to transmembrane proton translocation. *Annual Rev Biochem*. 63:675-716.
- Tsukiyama RI, Katsura H, Tokuriki N, Kobayasi M. 2002. Antibacterial activity of licochalcone A against spore forming bacteria. *Antimicrob Agent Chemother*. 46(5):1226-1230.
- Ullo F. 2008. Pemanfaatan tumbuhan akway (*Drimys* spp.) oleh Masyarakat Moile di Kampung Mokwan Distrik Minyambou Kabupaten Manokwari. [Skripsi]. Program Studi Manajemen Hutan Fakultas Kehutanan Universitas Negeri Papua. Manokwari.