

# Evaluasi Karakteristik Antibakteri Ekstrak Heksan Kulit Batang *Drimys piperita* Hook f. terhadap Pertumbuhan Bakteri Patogenik dalam Medium Padat

## *Evaluation of Hexane Extracts of Drimys piperita Hook f. Stem Barks on Growth of Patogenic Bacteria on Solid Medium*

Gino Nemesio Cepeda<sup>a\*</sup>, Meike Meilan Lisangan<sup>a</sup>, Isak Silamba<sup>a</sup>, Nitia Nilawati<sup>b</sup>  
dan Eka Syartika<sup>b</sup>

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

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

---

### Riwayat Naskah:

Diterima Februari 2020  
Direvisi November 2020  
Disetujui November 2020

**ABSTRAK:** *Drimys piperita* Hook f. adalah salah satu jenis tumbuhan aromatik yang dikelompokkan dalam keluarga *Winteraceae*. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan obat tradisional Suku Sougb yang bermukim di Pengunungan Arfak Papua Barat untuk pengobatan malaria dan peningkatan vitalitas tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway dan stabilitas antibakterinya terhadap pengaruh tingkat keasaman (pH), pemanasan dan konsentrasi natrium klorida secara *in vitro* serta potensinya sebagai pengawet pangan. Ekstraksi komponen antibakteri dilakukan menggunakan metode perendaman (maserasi) dalam pelarut heksan (maserasi) selama 72 jam. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode *agar well diffusion* pada empat bakteri uji, yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil riset memperlihatkan bahwa ekstrak heksan kulit batang akway bersifat menghambat pertumbuhan *S. aureus*, *E. coli*, dan *B. cereus* dengan konsentrasi terendah 0,35-0,89%. Ekstrak tahan terhadap pemanasan 100°C dalam waktu 25 menit dan konsentrasi natrium klorida ≤ 5%. Perlakuan pH 4 dan pH 8,5 dapat meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak. Ekstrak berpotensi sebagai pengawet pangan yang diproses dengan pemanasan dan pengasaman.

**Kata kunci:** antibakteri, ekstrak heksan, kulit batang *Drimys piperita*

**ABSTRACT:** *Drimys piperita* Hook f. is an aromatic plant that was included in family of *Winteraceae*. This plant is a traditional medical plant of Sougb tribe who leaved in Arfak Mountains, West Papua for healing malaria and enhancing vitality. The aims of the study were to evaluate *in vitro* antibacterial capacities of its barks hexane extracts and antibacterial stability of extracts on different pH, heating and natrium chloride concentrations also its potency as food preservative. Hexane extraction of barks powder was performed using Soaking method (maceration) for 72 hours. Antibacterial activity assays of extracts were done using method of *agar well diffusion* on four tested bacteria including *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. The result indicated that hexane extracts inhibited growth of *S. aureus*, *E. coli*, and *B. cereus* at minimum concentration of 0.35-0.89%. Extract was resisten on heating temperature of 100°C for 25 minutes and natrium chloride concentration up to 5%. The Treatment of pH 4 and pH 8.5 increased antibacterial activity of extracts. The extract has potency used as preservative agent for food produced by heating and acidifying process.

**Keywords:** antibacterial, hexane extracts, *Drimys piperita* barks

---

\* Kontributor utama  
Email : ginocepeda.gc@gmail.com

## 1. Pendahuluan

Pertumbuhan bakteri dalam pangan yang berdampak pada mutu dan keamanan pangan menjadi perhatian utama bagi konsumen, industri pangan dan lembaga penjamin keamanan pangan (Campelo, Medeiros, & Silva, 2019). Bakteri memanfaatkan komponen gizi dalam pangan yang mengakibatkan perubahan flavour, bau, warna, sensori, tekstur dan kerusakan pangan, disamping itu juga dapat menyebabkan penyakit melalui pangan yang disebabkan oleh bakteri patogen yang mengkontaminasi pangan (Mahmud dan Khan, 2018). Kebanyakan bakteri yang mengkontaminasi dan menyebabkan kerusakan pangan serta menyebabkan penyakit adalah bakteri *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* (Mostafa et al., 2018).

Penggunaan pengawet sintetik yang bersifat antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang menyebabkan kerusakan pangan serta bersifat patogen telah lama dilakukan oleh industri-industri pangan. Oleh karena persepsi konsumen bahwa konsumsi pengawet sintetik yang berlebihan berdampak pada perkembangan penyakit degeneratif sehingga memicu berkembangnya penelitian untuk mendapatkan pengawet alami dan bersifat antibakteri yang bersumber dari tumbuhan (Krishnan et al., 2014).

*Drimys piperita* adalah tumbuhan aromatik yang yang dikelompokkan ke dalam keluarga *winteraceae* (Stevens, 2017). Tumbuhan ini dikenal dengan nama "akway" dan dimanfaatkan sebagai obat herbal tradisional oleh Suku Sougb yang bermukim di Pegunungan Arfak Papua Barat untuk pengobatan penyakit malaria dan untuk meningkatkan vitalitas tubuh (Syakir, Bermawie, Agusta, & Paysei, 2011). Kandungan senyawa aromatik dalam bagian daun tumbuhan ini sebesar 0,2% (v/b), sedangkan dalam kulit batangnya mencapai 0,37% (v/b) (Cepeda, Santoso, Lisangan, & Silamba, 2011a; Cepeda, Santoso, Lisangan, & Silamba, 2011b).

Beberapa kajian komponen bioaktif penyusun ekstrak kulit batang tumbuhan ini telah dilaporkan. Ekstrak heksan dilaporkan mengandung kelompok senyawa flavonoid, saponin, terpenoid, glikosida dan alkaloid (Cepeda, Santoso, Lisangan, & Silamba, 2010) dan juga bagian kulit batangnya mengandung senyawa aromatik yang tersusun dari 4-terpineol 13,16%,  $\beta$ -pinen 14,88% dan  $\alpha$ -pinen 20,24% sebagai senyawa dengan kandungan terbesar (Cepeda et al., 2011b). Ekstrak etilasetat kulit batang akway mengandung senyawa fenolik 22,21 mg EAG/g (Cepeda, Lisangan, & Roreng, 2018). Kelompok fenolik dan senyawa  $\alpha$ -pinen serta  $\beta$ -pinen yang terdapat dalam kulit batang akway dilaporkan bersifat antibakteri (Cushnie & Lamb, 2005; Da Silva et al., 2012; Wang, Li, Luo, Zu, &

Efferth, 2012).

Aktivitas antibakteri ekstrak tumbuhan bergantung pada beberapa faktor diantaranya jenis bakteri, jumlah sel bakteri, konsentrasi, tingkat keasaman (pH), suhu dan kandungan sodium klorida (Seow, Yeo, Chung, & Yuk, 2014). Ekstrak tumbuhan yang berpotensi sebagai pengawet pangan harus stabil terhadap perlakuan-pelakuan dalam proses pengolahan pangan seperti pemanasan, pengasaman dan penambahan garam sodium klorida. Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi karakteristik antibakteri ekstrak heksan yang diperoleh dari kulit batang akway terhadap bakteri patogen dalam pangan pada berbagai konsentrasi, tingkat keasaman (pH), pemanasan pada suhu 100°C dan konsentrasi sodium klorida dan potensi ekstrak kulit batang akway sebagai sumber antibakteri alami untuk pengawetan pangan.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi kulit batang akway yang dikumpulkan dari desa Surey Kecamatan Anggi, Kabupaten Pegunungan Arfak Provinsi Papua Barat dan bahan-bahan kimia yang terdiri dari NaOH, HCl, tween 20, natrium klorida yang diperoleh dari Merck Jerman, hexane yang diperoleh dari JT Baker USA, *nutrient broth* (NB) dan *nutrient agar* (NA) yang diperoleh dari Oxoid, tween 20, NaOH dan HCl dari Merck dan bakteri *E. coli* galur ATCC25922 (EC), *P. aeruginosa* galur ATCC27853 (PA), *B. cereus* galur ATCC10876 (BC) dan *Staphylococcus aureus* galur ATCC25923 (SA) dibeli dari Laboratorium Mikrobiologi PAU IPB.

### 2.2. Alat

Alat-alat penunjang penelitian meliputi *moisture meter* tipe T-S7 produksi Jepang, *grinder* Miyako Indonesia, saringan 40 mesh produksi ASTM USA, *shaker incubator* Lab-line ORBIT, pompa vakum, *Eyela rotary evaporator* N1000, kertas saring whatman no. 1, timbangan WAS 220/C/2 RADWAG, mikropipet eppendorf, tips, *My life autoclave* tipe MA678 Indonesia, *Gerhardt hot plate Jerman*, Labnusantera laminar air flow Indonesia, vortex, Niigata Seiki caliper produksi Jepang dan peralatan gelas.

### 2.3. Metode

Metode eksperimen adalah metode yang diterapkan dalam penelitian ini, sedangkan rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok dengan perlakuan konsentrasi ekstrak (0-25%), lama pemanasan ekstrak pada suhu 100°C (0-

25 menit), variasi pH 4-8,5 serta konsentrasi natrium klorida ekstrak (0-5%). Tiap-tiap perlakuan diuji pada 4 kelompok bakteri uji dengan replikasi sebanyak 3 kali. Pelaksanaan tahapan penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fateta Universitas Papua.

### 2.3.1. Persiapan bubuk kulit batang akway

Kulit yang berasal dari batang utama dengan diameter  $\pm$  8-10 cm, dikeringkan-anginkan selama kurang lebih 5 - 7 hari hingga kandungan air mencapai  $\pm$  12%. Kulit batang kering selanjutnya dipotong-potong dengan ukuran panjang 3-4 cm kemudian dibuat bubuk dengan *grinder* lalu diayak. Bubuk dikumpulkan lalu dikemas menggunakan wadah plastik tertutup.

### 2.3.2. Proses ekstraksi bubuk kulit batang akway

Sebanyak 200 g bubuk dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 2 liter lalu ditambahkan pelarut hexan 800 ml. Campuran selanjutnya dimasukkan dalam *shaker incubator*. Proses ekstraksi dilakukan pada suhu ruang selama 72 jam. Setelah proses maserasi selesai, dilakukan penyaringan dengan pompa vakum. Filtrat yang tertampung diupapkan dalam *rotary evaporator* dengan kecepatan putar 60 rpm pada suhu 40°C. Ekstrak yang diperoleh dilanjutkan dengan penguapan sisa pelarut di dalam *refrigerator*. Ekstrak yang diperoleh dimasukkan dalam botol dan disimpan dalam *refrigerator* untuk digunakan dalam pengujian.

### 2.3.3. Persiapan kultur bakteri uji

Vial isolat kultur bakteri ditambahkan 1 ml NB lalu diaduk dengan vorteks. Campuran kultur dipipet lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi NB 10 ml. Kultur dimasukkan dalam *incubator* suhu 37°C selama 24 jam. Kultur selanjutnya dipindahkan pada permukaan agar miring lalu dimasukkan dalam inkubator suhu 37°C dengan waktu inkubasi 24 jam. Setelah waktu inkubasi selesai kultur yang tumbuh digunakan dalam pengujian.

Sebanyak 1 ose kultur bakteri dari media NA dipindahkan dalam 10 ml NB kemudian diaduk menggunakan vortex dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah waktu inkubasi selesai jumlah sel bakteri dihitung menggunakan pengenceran seri menggunakan metode *pour plate* pada medium NA. Jumlah sel bakteri pada perhitungan tersebut menjadi dasar untuk melakukan pengenceran seri kultur bakteri menjadi  $10^7$  CFU/ml bakteri pada setiap pengujian.

### 2.3.4. Pengujian antibakteri pada beberapa tingkat konsentrasi ekstrak

Evaluasi antibakteri ekstrak dilakukan menggunakan metode difusi pada medium agar (Balouiri, Sadiki, & Ibsouda, 2016). Kultur uji sejumlah 0,5 ml dengan jumlah sel  $10^7$  CFU/ml disebarkan di permukaan medium NA pada cawan petri selanjutnya dibuat sumur dengan ukuran diameter 6 mm pada medium NA menggunakan tips. Ke dalam tiap-tiap sumur dimasukkan 60  $\mu$ l ekstrak berdasarkan variasi konsentrasi, yaitu 0% (pelarut), 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (b/v). Sebagai kontrol positif digunakan 10% penicillin G. Masing-masing cawan diinkubasi dalam inkubator suhu 37°C dalam waktu 24 jam. Diameter penghambatan (zona jernih di sekeliling sumur) diukur dengan kaliper.

### 2.3.5. Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM)

Penentuan KHM menggunakan metode regresi linear (Bloomfield, 1991). Regresi linear dibuat antara ln konsentrasi (sumbu X) dan kuadrat penghambatan ekstrak (sumbu Y). Persamaan regresi linear  $Y = bX + a$  yang berpotongan pada sumbu X, adalah titik  $K_x$  (nilai ln konsentrasi). Nilai KHM adalah  $25\% \times$  konsentrasi ekstrak titik  $K_x$ .

### 2.3.6. Pengujian pengaruh pH terhadap aktivitas antibakteri ekstrak

Masing-masing sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dengan 9 ml aquades steril yang mengandung 10% tween 20, yang telah diatur pH sesuai dengan perlakuan menggunakan 0,5 N NaOH atau 0,5 N HCl. Larutan ekstrak tersebut siap digunakan dalam pengujian.

Sejumlah 0,5 ml ( $10^7$  CFU/ml), disebarkan secara merata di permukaan NA di dalam cawan. Sumur dibuat dengan cara melubangi permukaan NA dengan tips diameter 6 mm. Setiap sumur ditetesi dengan 60  $\mu$ l ekstrak 10% (b/v) sesuai variasi tingkat keasaman (pH) ekstrak (4, 5, 6, 7, 8,5) Tiap-tiap cawan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C dengan waktu inkubasi 24 jam. Diameter penghambatan diukur menggunakan caliper (Balouiri *et al.*, 2016).

### 2.3.7. Pengujian stabilitas antibakteri ekstrak terhadap pemanasan suhu 100°C

Sejumlah 0,5 ml kultur bakteri uji ( $10^7$  CFU/ml), disebarkan di permukaan NA di dalam cawan. Selanjutnya pada medium dibuat sumur berdiameter 6 mm dengan tips. Selanjutnya sejumlah 60  $\mu$ l ekstrak yang sudah mengalami perlakuan pemanasan suhu 100°C dengan waktu 0, 5, 10, 15,

20, 25 menit dimasukkan ke dalam tiap-tiap sumur. Cawan kemudian diinkubasi dalam *incubator* suhu 37°C dalam waktu 24 jam. Diameter penghambatan diukur dengan menggunakan caliper (Balouiri *et al.*, 2016).

### 2.3.8. Pengujian pengaruh konsentrasi natrium klorida terhadap aktivitas antibakteri

Sejumlah 0,5 ml kultur bakteri uji sebanyak  $10^7$  CFU/ml disebarkan di permukaan NA di dalam cawan. Selanjutnya di permukaan NA dilubangi menggunakan tips berdiameter 6 mm. Setiap sumur dimasukkan 60  $\mu$ l ekstrak heksan 10% yang mengandung sodium klorida sesuai dengan perlakuan, yaitu 0 (tanpa NaCl), 1, 2, 3, 4 dan 5% (b/v). Kemudian tiap-tiap cawan dimasukkan dalam *incubator* 37°C lalu diinkubasi selama waktu 24 jam. Diameter zona hambat di sekitar sumur diukur menggunakan caliper (Balouiri *et al.*, 2016).

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas antibakteri

Uji efek konsentrasi ekstrak heksan kulit batang akway terhadap aktivitas antibakteri dilakukan pada selang konsentrasi 0-25%. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak heksan kulit batang akway dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *B. cereus* dan *S. aureus* masing-masing dengan selang penghambatan 9,77-12,27 mm, 14,40-16,60 mm dan 7,82-14,22 mm (Tabel 1).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway sangat bergantung pada konsentrasi ekstrak yang digunakan. Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Kecenderungan ini juga dilaporkan terhadap ekstrak heksan daun *Napoleoneae imperialis* pada konsentrasi 2,5-20% (Anowi, Onyegbule, Gugu, & Utoh-Nedosa, 2012), biji *Swietenia humilis* 0,01-0,1% (Asmara, Hernawan, Nuzlia, & Maryana, 2013) dan daun *Ocimum gratissimum* 3-10% (Ekwenchi, Oluigbo, & Akpuaka, 2014). Pola peningkatan penghambatan ini diduga disebabkan peningkatan konsentrasi ekstrak berdampak pada bertambahnya jumlah senyawa antibakteri yang berdifusi di dalam agar sehingga diameter zona penghambatan dalam medium agar semakin besar (Seow *et al.*, 2014).

Tabel 1. juga menunjukkan bahwa bakteri *P. aeruginosa* resisten terhadap ekstrak heksan kulit batang akway dan penicillin G. Hal ini diduga disebabkan *P. aeruginosa* ATCC27853 merupakan bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik karena memiliki sistem pertahanan sel

yang disebut *multidrug efflux pump* yang berfungsi memompa senyawa antibakteri atau antibiotik ke luar sel (ARDB, 2009).

**Tabel 1**  
Aktivitas Antibakteri Pada Beberapa Konsentrasi Ekstrak

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat Rataan (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
0	6.00 <sup>a</sup>	6.00 <sup>a</sup>	6.00 <sup>a</sup>	6.00 <sup>a</sup>
5	9.77 <sup>b</sup>	14.40 <sup>cd</sup>	6.00 <sup>a</sup>	7.82 <sup>a</sup>
10	10.42 <sup>b</sup>	16.37 <sup>cd</sup>	6.00 <sup>a</sup>	12.70 <sup>bc</sup>
15	10.52 <sup>b</sup>	15.47 <sup>cd</sup>	6.00 <sup>a</sup>	13.27 <sup>cd</sup>
20	12.27 <sup>bc</sup>	16.27 <sup>cd</sup>	6.00 <sup>a</sup>	14.22 <sup>cd</sup>
25	11.75 <sup>b</sup>	16.60 <sup>d</sup>	6.00 <sup>a</sup>	13.27 <sup>cd</sup>
Penicilin G (10%)	30.15	16.62	6.00	59.87

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata pada uji BNJ  $\alpha$ -0.05.

### 3.2. Konsentrasi hambat minimum (KHM)

KHM adalah konsentrasi ekstrak terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil pengujian menunjukkan bahwa KHM ekstrak heksan batang akway untuk bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *S. aureus* masing-masing adalah 0,35%, 0,51% dan 0,89% (Tabel 2). Hasil KHM ekstrak heksan kulit batang akway sebesar 0,35-0,89% relatif lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak heksan *Napoleoneae imperialis* dan *Ocimum gratissimum* yang masing-masing sebesar 2,5-20% dan 2,5-10% (Anowi *et al.*, 2012; Ekwenchi *et al.*, 2014). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kapasitas antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak heksan *N. imperialis* dan *O. gratissimum*.

**Tabel 2**  
Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Bakteri	Regresi Linear	R <sup>2</sup>	KHM
<i>E. coli</i>	Y = 14.687X - 10.655	0.84	0.51%
<i>B. cereus</i>	Y = 65.634X - 22.377	0.89	0.35%
<i>S. aureus</i>	Y = 34.542X - 44.394	0.81	0.89%

Tabel 2. juga menunjukkan bahwa *B. cereus* merupakan bakteri yang paling rentan atau sensitif terhadap ekstrak heksan kulit batang akway, kemudian diikuti oleh *E. coli* sedangkan bakteri *S. aureus* merupakan bakteri yang paling tahan terhadap ekstrak kulit batang akway. Perbedaan sensitivitas bakteri terhadap ekstrak heksan juga dilaporkan pada ekstrak *Temnopleurus alexandri* dan *Eclipta alba*. Uma dan Parvathavarthini (2010) melaporkan, bahwa *B. subtilis* merupakan bakteri yang paling sensitif terhadap ekstrak heksan *Temnopleurus alexandri* dengan KHM sebesar 0,0025

mg/ml selanjutnya diikuti *S. aureus* dan *E. coli* dengan KHM masing-masing sebesar 0,05 mg/ml dan 0,625 mg/ml. Sebaliknya pada ekstrak heksan *Eclipta alba* dilaporkan *S. aureus* dan *E. coli* merupakan bakteri yang paling sensitif terhadap ekstrak dengan KHM 90 µg/ml, sedangkan *B. cereus* merupakan bakteri yang paling tahan terhadap ekstrak dengan KHM 300 µg/ml (Pandey, Singh, Sharma, & Lata, 2011). Perbedaan ketahanan bakteri terhadap ekstrak heksan kulit batang akway diduga masing-masing bakteri memiliki sensitivitas yang berbeda-beda terhadap senyawa antibakteri (Seow *et al.*, 2014).

### 3.3. Pengaruh level keasaman (pH) ekstrak

Efek level keasaman ekstrak terhadap aktivitas antibakterinya dilakukan pada selang pH 4-8,5. Pengujian ditujukan untuk mengkaji pengaruh sinergis pH pada kapasitas antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas antibakteri ekstrak sejalan dengan menurunnya pH ekstrak kulit batang akway pada kisaran pH 4-7. Aktivitas antibakteri ekstrak pada pH 7 terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *S. aureus* secara berurutan adalah 16,65 mm, 12,25 mm, dan 14,66 mm. Aktivitas antibakteri tersebut cenderung meningkat menjadi 14,98 mm, 18,80 mm dan 17,88 mm pada pH 4 (Tabel 3). Hasil memperlihatkan bahwa level keasaman (pH) tidak memberikan pengaruh yang nyata pada aktivitas antibakteri.

Seperti yang terlihat dalam Tabel 3, perlakuan pH rendah bersifat meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway. Pola yang sama juga dilaporkan terjadi pada ekstrak bawang putih (Anees, Ravi, & Ghorgare, 2015) dan ekstrak daun *Carica papaya* (Romasi, Karina, & Parhusip, 2011). Efek sinergis pH rendah terhadap aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang akway diduga pada konsentrasi [H<sup>+</sup>] yang tinggi (pH rendah), ion H<sup>+</sup> mampu berdifusi masuk melalui membran ke dalam sitoplasme sel bakteri. Ion H<sup>+</sup> yang melewati membran akan menginaktivasi enzim-enzim dalam membran dan mengganggu sistem transpor ion dan nutrien ke dalam sel (Rahman, 2007). Kerusakan membran sel dapat mempercepat proses difusi senyawa antibakteri berdifusi ke dalam sitoplasma lalu menghambat aktivitas di dalam sel.

Peningkatan aktivitas antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway juga terjadi pada pH 8,5 dibandingkan dengan pH 7. Peningkatan aktivitas antibakteri pada pH alkalin (pH 8,5) disebabkan aktivitas OH<sup>-</sup> terhadap membrane sel bakteri. Menurut Aquiar, Guerreiro-Tanomaru, Faria, Leonardo, & Tanomaru-Filho, (2015), ion hidroksil merupakan radikal bebas yang sangat reaktif yang bekerja pada komponen membran dan mempengaruhi aktivitas membrane sel. Ion OH<sup>-</sup>

menyebabkan denaturasi protein membran sehingga mengganggu transpor nutrien lewat membran, juga bersifat merusak lapisan fosfolipid membran melalui reaksi peroksidasi lipid (Mohammadi, Shalavi, & Yazdizadeh, 2012). Kerusakan pada membran sel bakteri akan memudahkan senyawa antibakteri masuk ke dalam sitoplasma sel bakteri dan mengganggu proses metabolisme sel sehingga menyebabkan kematian sel bakteri.

**Tabel 3**  
 Aktivitas Antibakteri Ekstrak pada Beberapa Level Keasaman

Level Keasaman (pH)	Diameter Zona Hambat Rataan (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
4	14.98 <sup>b</sup>	18.80 <sup>d</sup>	17.88 <sup>cd</sup>
5	12.88 <sup>a</sup>	17.51 <sup>cd</sup>	17.06 <sup>c</sup>
6	12.64 <sup>a</sup>	17.23 <sup>c</sup>	16.39 <sup>bc</sup>
7	12.25 <sup>a</sup>	16.65 <sup>c</sup>	14.66 <sup>b</sup>
8.5	12.56 <sup>a</sup>	17.56 <sup>cd</sup>	17.40 <sup>cd</sup>

Keterangan : notasi huruf yang sama setelah angka menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh nyata dengan uji BNJ  $\alpha$ -0.05.

Peningkatan aktivitas antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway dengan menurunnya pH mengindikasikan ekstrak heksan berpotensi digunakan sebagai pengawet pada pangan khususnya pangan dengan kandungan asam yang tinggi atau pH rendah.

### 3.4. Pengaruh pemanasan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak

Pengujian efek perlakuan panas suhu 100°C pada waktu 0-25 menit terhadap ekstrak heksan kulit batang akway bertujuan mengevaluasi stabilitas senyawa antibakteri dalam ekstrak heksan kulit batang akway. Hasil pengujian memperlihatkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway pada bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *S. aureus* masing-masing sebesar 17,18-17,68 mm, 11,50-12,00 mm, dan 14,50-16,00 mm (Tabel 4).

**Tabel 4**  
 Pengaruh Pemanasan Ekstrak terhadap Aktivitas Antibakteri

Pemanasan Pada 100°C (menit)	Diameter Zona Hambat (mm)		
	<i>E.coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
0	11.75 <sup>a</sup>	17.38 <sup>a</sup>	16.00 <sup>a</sup>
5	11.50 <sup>a</sup>	17.68 <sup>a</sup>	16.28 <sup>a</sup>
10	12.00 <sup>a</sup>	17.20 <sup>a</sup>	14.88 <sup>a</sup>
15	11.50 <sup>a</sup>	17.18 <sup>a</sup>	14.58 <sup>a</sup>
20	11.80 <sup>a</sup>	17.45 <sup>a</sup>	15.30 <sup>a</sup>
25	11.30 <sup>a</sup>	17.35 <sup>a</sup>	14.50 <sup>a</sup>

Analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan pemanasan pada suhu 100°C dengan waktu pemanasan sampai 5 menit tidak memberikan pengaruh nyata pada karakteristik antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway. Hasil yang serupa juga ditemukan pada ekstrak *Panax ginseng* dan daun *Paveta indica*. Senyawa antibakteri ekstrak *P. ginseng* tahan terhadap pemanasan suhu 100°C dalam waktu 60 menit (Na, Kim, Rhee, & Oh, 2018), sedangkan komponen yang bersifat antibakteri dalam ekstrak daun *Paveta indica* stabil selama pemanasan selama 15 menit pada suhu 100°C (Gupta, Kaur, Simlai, & Roy, 2013). Hasil memperlihatkan bahwa senyawa-senyawa antibakteri penyusun ekstrak kulit batang akway stabil pada pemanasan suhu 100°C dalam waktu 5 menit dan berpotensi digunakan sebagai pengawet makanan yang menggunakan perlakuan pemanasan 100°C.

### 3.5. Pengaruh konsentrasi garam

Pengujian pengaruh konsentrasi natrium klorida ekstrak heksan kulit batang akway diterapkan pada selang konsentrasi NaCl 0-5%. Perlakuan ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh sodium klorida pada aktivitas antibakteri ekstrak. Data hasil pengujian memperlihatkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak pada beberapa level konsentrasi natrium klorida terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *S. aureus* masing-masing sebesar 16,98-17,63 mm, 12,65-13,34 mm, dan 16,24-17,00 mm (Tabel 5).

**Tabel 5**  
Karakteristik Antibakteri Ekstrak pada Variasi Konsentrasi Natrium Klorida

Konsentrasi NaCl (%)	Diameter Zona Hambat Rataan (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
0	12.65 <sup>a</sup>	17.63 <sup>a</sup>	17.00 <sup>a</sup>
1	13.09 <sup>a</sup>	17.05 <sup>a</sup>	16.46 <sup>a</sup>
2	13.11 <sup>a</sup>	17.05 <sup>a</sup>	16.48 <sup>a</sup>
3	13.19 <sup>a</sup>	17.35 <sup>a</sup>	16.53 <sup>a</sup>
4	13.06 <sup>a</sup>	16.98 <sup>a</sup>	16.53 <sup>a</sup>
5	13.34 <sup>a</sup>	17.24 <sup>a</sup>	16.24 <sup>a</sup>

Analisis varians menunjukkan bahwa level konsentrasi natrium klorida ekstrak tidak memberikan pengaruh nyata pada karakteristik antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway. Hasil analisis tersebut menjelaskan bahwa natrium klorida sampai dengan konsentrasi 5% tidak bersifat sinergis atau mereduksi kapasitas antibakteri ekstrak.

Konsentrasi natrium klorida sebesar 5% tidak berdampak sinergis aktivitas antibakteri ekstrak

diduga level konsentrasi tersebut tidak berpengaruh terhadap komponen antibakteri dalam ekstrak dan pertumbuhan bakteri uji dalam medium agar. Konsentrasi garam 5% tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri diduga bakteri masih dapat mentoleransi konsentrasi garam tersebut. Tsai *et al.* (2011), melaporkan bahwa bakteri *S. aureus* dapat mentoleransi kandungan garam sodium klorida 5% pada lingkungan tumbuhnya, sedangkan *B. cereus* dan *E. coli*, masih bisa bertumbuh pada lingkungan tumbuh dengan kadar sodium klorida mencapai 5% (Patra & Baek, 2016; Hrenovic & Ivankovic, 2009).

## 4. Kesimpulan

Ekstrak heksan kulit batang akway memiliki karakteristik menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *S. aureus* dengan konsentrasi hambat minimum 0,35-0,89% sedangkan bakteri *P. aeruginosa* resisten terhadap ekstrak. Perlakuan pemanasan suhu 100°C dalam waktu 5 menit juga penambahan natrium klorida ≤ 5% tidak mereduksi aktivitas antibakteri ekstrak. Penurunan pH 7 menjadi pH 4 dan peningkatan pH 7 menjadi pH 8 bersifat meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak heksan kulit batang akway. Ekstrak heksan kulit batang akway berpotensi sebagai pengawet pangan khususnya untuk pangan dengan perlakuan panas pada 100°C dan pangan pH rendah. Ekstrak ini berpotensi sebagai pengawet pangan yang diproses dengan pemanasan dan pengasaman.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Laboratorium Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian atas bantuan berupa penggunaan fasilitas laboratorium untuk pelaksanaan penelitian ini dan kepada Kementerian Ristek dan Dikti sebagai penyandang dana.

## Daftar Pustaka

- Anees, A. M., Ravi, S., & Ghorgare, P. (2015). Studies on antimicrobial activity of spices and effect of temperature and pH on its antimicrobial properties. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 10(1), 99-102.
- Anowi, C. F., Onyegbule, A. F., Gugu, T. H., & Utoh-Nedosa, U. A. (2012). Evaluation of antimicrobial properties of n-hexane extract of the leaves of *Napoleoneae imperialis* family *Lecythiaceae*. *IJPSR*, 3(7), 2154-2158
- ARDB. (2009). Antibiotic resistance data base: *Pseudomonas aeruginosa*. Center for Bioinformatic and Computational: Biology University of Maryland College Park MD20742.
- Aquiar, A. S., Guerreiro-Tanomaru, J. M., Faria, G.,

- Leonardo, R. T., & Tanomaru-Filho, M. (2015). Antimicrobial activity and pH of calcium hydroxide and zinc oxide nanoparticles intracanal medication and association with chlorhexidine. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 16(8), 624-629.
- Asmara, A. P., Hernawan, Nuzlia, C., & Maryana, R. (2018). Antibacterial bioactivity of n-hexane extract from mahogany (*Swietenia humilis* Zucc.) seed and its fatty acid compound identification. The 2nd International Conference on Natural Products and Bioresource Sciences 1-2 Nov. 2018. Tangerang, Indonesia.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. *J. Pharma Anal.* 6(2), 71-79.
- Bloomfield, S. (1991). Methods for assesing antimicrobial activity. In S. P. Denyer, H. B. Hugo, editor. *Mechanism of action of chemical biocides their study and exploitation* (pp.1-22). London: Scientific Publication.
- Campelo, M. C. S., Medeiros, J. M.S. & Silva, J. B. A. Natural products in food preservation. *International Food Research Journal*, 26(1), 41 - 46.
- Cepeda, G. N., Santoso, B. B., Lisangan, M. M., & Silamba, I. (2010). Penapisan fitokimia akway. *Jurnal Agrotek*, 1(8), 28-33.
- Cepeda, G. N., Santoso, B. B., Lisangan, M. M., & Silamba, I. (2011a). Komposisi kimia minyak atsiri kulit batang akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Bionatura*, 13(2), 118-124.
- Cepeda, G. N., Santoso, B. B., Lisangan, M. M., & Silamba, I. (2011b) Komposisi kimia minyak atsiri daun akway. *Makara Sains*, 15(1), 63-66.
- Cepeda, G. N., Lisangan, M. M., & Roreng, M. K. (2018). Aktivitas penangkal radikal bebas dan kemampuan reduksi ekstrak kulit batang akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Jurnal Aplikasi Teknologi pangan*, 7(4), 168-173.
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*, 26(5), 343-356
- Da Silva, A. C., Lopes, P. M., De Azevedo, M. M., Costa, D. C., Alviano, C. S., & Alviano, D. S. (2012). Biological activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene enantiomer. *Molecules*, 17, 6305-6316.
- Ekwenchi, M. M., Oluigbo, J., & Akpuaka, A. (2014). Antibacterial activity of n-hexane extract of *Ocimum gratissimum* leaves. *IOSR Journal Applied Chemistry*, 7(5), 6-10.
- Gupta, V. K., Kaur, C., Simlai, A., & Roy, A. (2013). Antimicrobial activity of *Pavetta indica* leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(4), 078-082.
- Hrenovic, J., & Ivankovic, T. (2009). Survival of and *Escherichia coli* and *Acinetobacter junii* at various concentrations of sodium chloride. *EurAsia J BioSci*, 3(1), 144-151.
- Krishnan, K. R., Babuskin, S., Babu, P. A. S., Sasikala, M., Sabina, K., Archana, G., et al. (2014). Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 32-40.
- Mahmud, J., & Khan, R. A. (2018). Characterization of natural antimicrobials in food system. *Advances in Microbiology*, 8, 894-916
- Mohammadi, Z., Shalavi, S., & Yazdizadeh, M. (2012). Antimicrobial activity of calcium hydroxide in endodontics: A Review. *Chonnam Medical Journal*, 48, 133-140
- Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N., & Bakri, M. M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25, 361-366.
- Na, S., Kim, J. H., Rhee, Y. K., & Oh, S. W. (2018). Enhancing the antimicrobial activity of ginseng against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* by heat treatment. *Food Sci Biotechnol.* 27(1), 203-210.
- Pandey, M. K., Singh, G. N., Sharma, R. K., & Lata, S. (2011). Antibacterial activity of *Eclipta alba* (L.) Hassk. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(7), 104-107.
- Patra, J. K., & Baek, K. H. (2016). Antibacterial activity and action mechanism of the essential oil from *Enteromorpha linza* L. against foodborne pathogenic bacteria. *Molecules*, 21(3), 388.
- Rahman, M. S. (2007). pH in Food Preservation. In M. S. Rahman, *Handbook of Food Preservation* 2nd edition (pp. 287-298). Boca Raton: CRC Press.
- Romasi, E. F., Karina, J., & Parhusip, A. J. N. (2011). Antibacterial activity of papaya leaf extracts against pathogenic bacteria. *Makara Seri Teknologi*, 15(2), 173-177.
- Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L., & Yuk, H. G. (2014). Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 54(5): 625-644.
- Stevens, P. F. (2017). [http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/July 4, 2017](http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/July4,2017). Retrieved Maret 2, 2019, from Canellales. Angiosperm Phylogeny Website: <http://www.mobot.org>
- Syakir, M., Bermawie, N., Agusta, H., & Paysei, E. N. (2011). Karakterisasi sifat morfologi dan penyebaran batang akway (*Drimys* sp) di Papua Barat. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 17(4), 169-173

- Tommasen, J. (2010). Assembly of outer-membrane proteins in bacteria and mitochondria. *Microbiol.* 156(9), 2587-2596.
- Tsai, M., Ohniwa, R. L., Kato, Y., Takeshita, S. L., Ohta, T., Saito, S., et al. (2011). Staphylococcus requires cardiolipin for survival under condition of high salinity. *BMC Microbiol.* 11(13), 1-12.
- Uma, B. & Parvathavarthini, R. (2010). Antibacterial Effect of Hexane Extract of Sea Urchin, *Temnopleurus alexandri* (Bell,1884). *International Journal of PharmTech Research*, 2(3), 1677-1680.
- 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(3), 2704-2713.