

Artikel Penelitian

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Kulit Kayu Akway (*Drimys piperita* Hook.f.) pada Bakso Daging Sapi Selama Penyimpanan

Antibacterial Activity of Ethyl Acetate Extracts of Akway (Drimys piperita Hook.f.) barks on Meatballs during Storage

Gino Nemesio Cepeda*, Meike Meilan Lisangan, Isak Silamba, Nitia Nilawati, Eka Syartika

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Papua, Manokwari

*Korespondensi (ginocepeda.gc@gmail.com)Artikel ini dikirim pada tanggal 13 Oktober 2019 dan dinyatakan diterima tanggal 09 Maret 2020. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jatp>. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists® ©2020

Abstract

Akway (*Drimys piperita* Hook.f.) adalah tumbuhan obat yang digunakan oleh Suku Sougb Kabupaten Pegunungan Arfak Papua Barat untuk mengobati malaria. Penelitian-penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tumbuhan obat bersifat antibakteri yang kuat. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antibakteri ekstrak etilasetat kulit kayu akway secara *in vitro* dan aplikasinya sebagai pengawet bakso daging sapi dalam penyimpanan suhu ruang dan *refrigerator*. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak secara *in vitro* dilakukan pada konsentrasi 0-25% (b/v) dengan menggunakan metode difusi sumur dalam medium agar sedangkan pengujian aktivitas antibakteri dalam model pangan bakso daging sapi dilakukan pada konsentrasi 0-0,75% (b/v) dengan menggunakan metode angka lempeng total. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923 secara *in vitro* dengan konsentrasi penghambatan minimum sebesar 0,27-0,77% (b/v). Konsentrasi ekstrak berpengaruh nyata terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan menyebabkan semakin besar pula zona hambat pertumbuhannya. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri dalam bakso daging sapi menunjukkan bahwa pencelupan bakso dalam ekstrak dengan konsentrasi 0,25-0,75% (b/v) dapat menghambat pertumbuhan bakteri selama 3-8 hari untuk penyimpanan pada suhu ruang sedangkan pada penyimpanan *refrigerator* adalah 15-33 hari. Kesimpulannya, ekstrak etilasetat kulit kayu akway sangat berpotensi digunakan sebagai pengawet model pangan bakso daging sapi.

Kata kunci: antibakteri, ekstrak, etil asetat, akway, bakso

Abstract

Akway (*Drimys piperita* Hook.f.) is a medical plant used by Sougb Tribe, Arfak Mountains Regency, West Papua Province to heal malaria. Previous researches indicated that medical plants had strong antibacterial properties. The objectives of the research were to evaluate *in vitro* antibacterial potency of ethylacetate extracts of akway barks and its applications as preservative agent on meatballs during room temperature and cold storage. *In vitro* antibacterial assays were done on concentration of 0-25% (w/v) using agar well diffusion method while antibacterial assays on meatballs on concentration of 0-0.75% (w/v) were performed using total plate counts methods. Results showed that ethylacetate extracts inhibited *in vitro* growth of *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923 with MIC of 0.27-0.77% (w/v). Concentration of extracts significantly affected the growth of bacteria. The increasing of extract concentrations result in increasing diameters of growth inhibition zones. Meatballs soaked in extract solutions with concentrations of 0.25-0.75% (w/v) inhibited growth of bacteria during 3-8 days in room temperature storage and 15-33 days during cold storage in refrigerator. As conclusion, ethylacetate extracts of akway barks had high potent use as preservative agent in food model of meatballs.

Key words: antibacterial, extracts, ethyl acetate, akway, meatballs

Pendahuluan

Tumbuhan obat merupakan sumber antibakteri yang potensial untuk digunakan sebagai pengawet pangan karena menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri (Compean and Ynalvez, 2014). Beberapa studi menunjukkan bahwa ekstrak dari berbagai tumbuhan obat dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen secara *in vitro*. Ekstrak etilasetat buah *Garcinia lattissima* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas*

aeruginosa (Ambarwati *et al.*, 2017). Ekstrak etilasetat *Urtica dioica*, *Taraxacum officinale* dan *Mentha longifolia* bersifat antibakteri terhadap *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *B. cereus* dan *Escherichia coli* (Ghaima *et al.*, 2013; Saeidi *et al.*, 2014).

Akway (*Drimys piperita* Hook.f.) merupakan tumbuhan obat tradisional Suku Sougb di Kabupaten Pegunungan Arfak Papua Barat. Tumbuhan ini digunakan untuk mengobati malaria dan meningkatkan daya tahan tubuh (Syakir *et al.*, 2011). Akway

merupakan tumbuhan aromatik, berkayu dan berdaun hijau sepanjang tahun yang dikelompokkan ke dalam keluarga *Winteraceae* (Stevens, 2017). Kulit kayu akway mengandung minyak atsiri yang tersusun dari senyawa α -pinen, β -pinen dan 4-terpineol (Cepeda *et al.*, 2011a) sedangkan minyak atsiri bagian daunnya tersusun dari senyawa α -pinen, β -pinen, linalool dan nerolidol (Cepeda *et al.*, 2011b). Kulit kayu akway juga dilaporkan mengandung senyawa fenol dan flavonoid masing-masing sebesar 22,21 mgEAG/g dan 2,30 mgEQ/g ekstrak (Cepeda *et al.*, 2018). Senyawa-senyawa α -pinen, β -pinen, senyawa fenolik dan flavonoid dilaporkan bersifat antibakteri yang kuat (Mercier *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2015).

Keefektifan ekstrak tumbuhan menghambat pertumbuhan bakteri bergantung pada beberapa faktor diantaranya komponen penyusun pangan. Konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi diperlukan untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam model pangan dibandingkan medium mikrobiologi. Pangan mengandung lemak, protein dan karbohidrat yang dapat mengganggu aktivitas antibakteri ekstrak (Higginbotham *et al.*, 2014). Kim *et al.* (2004) melaporkan bahwa ekstrak teh hijau dan teh melati menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes* dan *S. aureus* dalam medium *brain heart infusion broth* tapi tidak menghambat bakteri tersebut pada model pangan daging giling. Hasil yang serupa juga ditemukan pada ekstrak *Filipendula ulmaria*. Konsentrasi ekstrak *Filipendula ulmaria* 4-10% dapat menghambat pertumbuhan *L. monocytogenes*, *E. coli* dan *S. aureus* dalam medium *trypticase soy broth* sedangkan pada daging ikan tidak terjadi penghambat pertumbuhan bakteri perusak pangan (Bozaris *et al.*, 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antibakteri ekstrak etilasetat kulit kayu akway secara *in vitro* dan sebagai pengawet bakso daging sapi selama penyimpanan pada suhu ruang dan suhu rendah di dalam *refrigerator*. Bakso daging sapi dipilih sebagai model pangan karena mengandung lemak, protein dan karbohidrat yang tinggi dan pangan ini mudah mengalami kerusakan selama penyimpanan.

Materi dan Metode

Materi

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah pohon akway yang diperoleh dari Distrik Surorey Kabupaten Pegunungan Arfak Papua Barat, isolat bakteri *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923 yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Ilmu Pangan IPB, bahan-bahan untuk pembuatan bakso, sodium klorida (Merck, Jerman), etilasetat (JT Baker, USA), tween 20, *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB) dan *plate count agar* (PCA) dari (Oxoid, USA), aquades. Alat yang digunakan adalah *moisture meter* (T-S7, Jepang), ayakan (ASTM 40 mesh USA), pompa vakum, *rotary evaporator* (Eyela N1000, Jepang), kertas saring whatman no. 1, *autoclave* (My life MA678, Indonesia), *laminar air flow* atau LAF (Labnusantera, Indonesia),

vortex, *shaker incubator*, incubator, cawan petri, mikropipetor, caliper (Niigata Seiki, Jepang) dan peralatan gelas.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Papua selama kurang lebih 6 bulan. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dilakukan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) yang terdiri dari 6 perlakuan konsentrasi ekstrak, yaitu konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, 25% dengan penicillin G sebagai control positif dan 4 kelompok bakteri uji.

Persiapan Bubuk Kulit Kayu Akway

Kulit kayu dipisahkan dari bagian batangnya dengan menggunakan pisau. Kulit kayu yang diperoleh dikeringkan-anginkan pada suhu ruang selama kurang lebih 7 hari sampai kadar air kulit kayu mencapai 10-12%. Kulit kayu kering digiling dan diayak dengan ayakan 40 mesh. Bubuk yang diperoleh dikemas dalam kemasan plastik (Cepeda *et al.*, 2018).

Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi dengan pelarut etil asetat dilakukan dengan menggunakan metode perendaman dalam pelarut (maserasi). Perbandingan bubuk kulit kayu akway dan pelarut etil asetat adalah 1:4 (100 gram bubuk kulit kayu akway ditambahkan 400 ml etil asetat). Proses ekstraksi dilakukan pada suhu ruang selama 72 jam dengan menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 40 rpm. Setelah proses ekstraksi selesai, campuran disaring dengan kertas saring Whatman no. 1 menggunakan pompa vakum. Larutan hasil penyaringan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 60 rpm sampai ekstrak menjadi kental. Ekstrak yang diperoleh dilakukan penguapan sisa pelarut dalam *refrigerator* sampai diperoleh ekstrak semisolid. Ekstrak hasil penguapan, disimpan dalam botol untuk digunakan dalam pengujian (Cepeda *et al.*, 2015).

Persiapan Biakan Bakteri

Ampul isolat bakteri uji dibuka secara aseptik di dalam LAF, kemudian di dalam ampul ditambahkan NB sebanyak 1 ml dan diaduk hingga tercampur merata menggunakan vorteks. Campuran biakan dan medium tersebut dipipet dan dipindahkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml NB dan diaduk menggunakan vortex. Biakan bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam menggunakan inkubator. Biakan bakteri yang telah tumbuh dalam medium NB, diinokulasi pada permukaan medium NA dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah terlihat pertumbuhan, biakan bakteri tersebut siap digunakan dalam pengujian (Cepeda *et al.*, 2019).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat kulit kayu akway dilakukan dengan menggunakan

metode *agar well diffusion* (Balouiri *et al.*, 2016). Sejumlah 500 µl biakan bakteri uji (10^7 CFU/ml) dalam medium NB yang dibiakan pada suhu 37°C selama 20 jam, dipipet dan disebarakan merata pada permukaan medium NA steril yang telah memadat dalam cawan petri. Kemudian pada media NA dibuat sumur dengan menggunakan tips yang berdiameter 6 mm. Ke dalam masing-masing sumur dimasukkan ekstrak sebanyak 60 µl dengan perlakuan konsentrasi 0-25% (b/v), dengan kontrol positif penicillin G (10%). Kemudian cawan petri dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona hambat tumbuh (zona bening di sekitar sumur) diukur menggunakan caliper.

Konsentrasi Penghambatan Minimum (KPM)

Penentuan nilai KPM dilakukan berdasarkan diameter zona hambat tumbuh pada beberapa level konsentrasi ekstrak menggunakan metode Bloomfield (1991), yaitu dengan membuat persamaan regresi linear antara nilai $\ln K$ (\ln konsentrasi ekstrak) pada sumbu X, terhadap nilai kuadrat diameter zona hambat tumbuh terhadap bakteri uji (D^2) pada sumbu Y. Persamaan regresi linear $Y = a + bX$ yang berpotongan dengan sumbu X, pada nilai $Y = 0$ merupakan titik K_x (nilai \ln konsentrasi) pada $Y = 0$. $KPM = 0,25 \times e^{K_x}$.

Pembuatan Bakso Daging Sapi

Sebanyak 1000 g daging sapi dilumat dengan menggunakan mesin penggiling daging. Bawang putih 100 g, merica 15 g, garam 30 g dihaluskan menggunakan blender. Daging sapi lumat dicampur dengan bumbu-bumbu yang telah dihaluskan kemudian ditambahkan tepung tapioka sebanyak 300 g dan es batu sampai terbentuk adonan bakso. Adonan dicetak menjadi bulatan-bulatan dengan ukuran 2-2,5 g. Hasil cetakan kemudian direbus pada suhu 90°C sampai matang, yang ditandai dengan bakso mengapung dipermukaan air rebusan. Bakso yang sudah matang diangkat dan ditiriskan. Bakso siap digunakan dalam pengujian (Modifikasi Nugboon dan Intarapichet, 2015).

Pengujian Pertumbuhan Bakteri Pada Bakso

Bakso dicelup ke dalam larutan ekstrak kulit kayu akway selama 10 menit dengan konsentrasi ekstrak 0, 0,25, 0,5 dan 0,75% (b/v). Setelah pencelupan bakso dalam ekstrak bakso diangkat, ditiriskan dan dikemas dalam kemasan plastik polipropilen. Bakso kemudian disimpan pada suhu ruang dan refrigerator (4-5°C) masing-masing selama 8 hari dan 33 hari. Pertumbuhan bakteri selama penyimpanan bakso dianalisis dengan menggunakan *metode total plate count* menggunakan medium *plate count agar*. Jumlah bakteri dinyatakan dalam satuan *colony forming unit* (CFU)/g (Sholpan *et al.*, 2019).

Analisis Data

Data hasil pengujian antibakteri pada beberapa level konsentrasi dianalisis menggunakan analisis varians pada taraf uji $\alpha=0,99$. Hasil analisis varians yang

menunjukkan perlakuan berbeda nyata dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ 0,01).

Hasil dan Pembahasan

Aktivitas Antibakteri Ekstrak

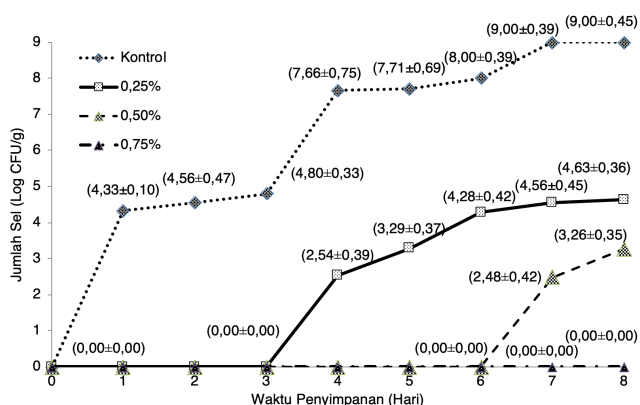
Evaluasi potensi antibakteri ekstrak etil asetat kulit kayu akway dilakukan pada selang konsentrasi ekstrak sebesar 0-25%. Tahap ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu akway dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus* masing-masing dengan diameter zona hambat pertumbuhan sebesar 3,88-6,8; 7,45-10,55; 2,65-4,95; dan 7,5-12,58 mm (Tabel 1). Hasil analisis varians menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak kulit kayu akway berpengaruh nyata terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji.

Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat kulit kayu akway dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji sangat berhubungan erat dengan kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak. Kulit kayu akway dilaporkan mengandung senyawa terpenoid α -pinen dan β -pinen yang bersifat antibakteri (Mercier *et al.*, 2009), serta mengandung senyawa fenolik yang juga merupakan senyawa yang juga bersifat antibakteri (Cepeda *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2015).

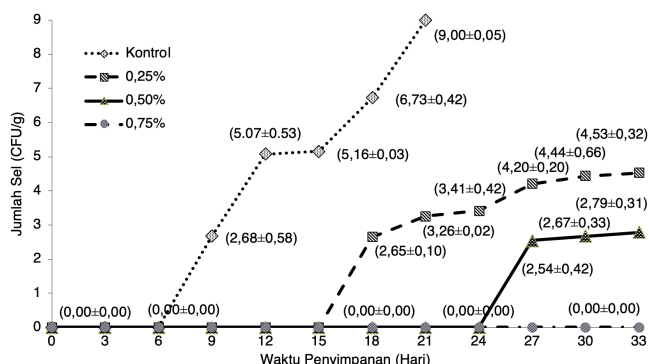
Peningkatan konsentrasi ekstrak dari 0-25% berdampak pada meningkatnya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil yang serupa juga ditemukan pada ekstrak akar *Althaea officinalis* (Haghgoo *et al.*, 2017), ekstrak *Rosemary* dan *clove* (Zhang *et al.*, 2016). Peningkatan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dengan bertambahnya konsentrasi disebabkan oleh meningkatnya jumlah senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak dengan bertambahnya konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan menyebabkan semakin banyak senyawa antibakteri dalam ekstrak yang berdifusi ke dalam medium agar untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Seow *et al.* (2014), peningkatan konsentrasi ekstrak berdampak pada meningkatnya aktivitas antibakteri.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat akway dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit kayu akway merupakan senyawa antibakteri spektrum luas. Disamping itu juga ekstrak ini dapat menghambat *B. cereus* ATCC10876 dan *P. aeruginosa* ATCC27853 yang merupakan bakteri yang relatif tahan terhadap antibiotik (ARDB, 2009; Iliev *et al.*, 2015). Pada konsentrasi ekstrak etil asetat kulit kayu akway sebesar 10% menghasilkan diameter zona hambat pertumbuhan terhadap *B. cereus* dan *P. aeruginosa* masing-masing sebesar 8,45 mm dan 3,30 mm sedangkan penicillin G 10% hanya menghambat pertumbuhan *B. cereus* sebesar 7,50 mm dan tidak dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat kulit kayu akway berpotensi digunakan sebagai sumber

senyawa antibakteri alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang tahan terhadap antibiotik.



Figur 1. Aktivitas antibakteri ekstrak selama penyimpanan bakso pada suhu ruang



Figur 2. Aktivitas antibakteri ekstrak selama penyimpanan bakso pada suhu refrigerator

Konsentrasi Penghambatan Minimum

KPM adalah konsentrasi ekstrak terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan untuk menentukan kerentanan dan ketahanan bakteri (Li et al., 2017). Hasil menunjukkan bahwa KPM ekstrak etil asetat kulit kayu akway bervariasi di antara bakteri uji. KPM ekstrak etil asetat kulit kayu akway terhadap bakteri uji berkisar 0,27-0,77% (Tabel 2). Nilai KPM ekstrak etil asetat kulit kayu akway relative lebih rendah

dibandingkan nilai KPM ekstrak tumbuhan obat lainnya. KPM ekstrak etil asetat *Scutellaria litwinomii* terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *B. cereu*, *E. coli* dan *S aureus* sebesar 0,625-5% (Bazzaz et al., 2011) dan ekstrak methanol *Nigella sativa* dan *Zingiber officinale* terhadap *S. aureus*, *E. coli* dan *P. aeruginosa* yang berkisar 0,64-1,28% (Bereksi et al., 2018).

Seperti yang terlihat pada Tabel 2, KPM terhadap bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* lebih rendah dibandingkan dengan bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri Gram negatif lebih tahan terhadap ekstrak etilasetat kulit kayu akway dibandingkan bakteri Gram positif. Ketahanan bakteri Gram negatif terhadap ekstrak etilasetat akway disebabkan jenis bakteri ini memiliki struktur membrane terluar (*outer membrane*) yang tersusun dari lipopolisakarida yang dapat menghambat masuknya senyawa antibakteri dalam sel (Tommasen, 2010).

Aktivitas Antibakteri dalam Bakso

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway terhadap pertumbuhan bakteri selama penyimpanan bakso pada suhu ruang bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak sebagai sumber antibakteri untuk pengawetan pangan yang mengandung karbohidrat, protein dan lemak yang tinggi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa perendaman bakso selama 10 menit di dalam larutan ekstrak etil asetat kulit kayu akway sebesar 0,25-0,75% dapat menghambat pertumbuhan bakteri selama penyimpanan pada suhu ruang (Figur 1).

Penggunaan ekstrak dengan konsentrasi 0,25% dapat mereduksi total pertumbuhan bakteri sebesar 4,33 log CFU/g pada penyimpanan hari ke-3. Peningkatan konsentrasi ekstrak menjadi 0,5% dapat menghambat total pertumbuhan bakteri sebesar 8,00 log CFU/g pada penyimpanan hari ke-6 sedangkan pada konsentrasi 0,75% terjadi penghambat total pertumbuhan bakteri pada hari ke-8 sebesar 9,00 log CFU/g.

Figur 1 juga menunjukkan penggunaan ekstrak etil asetat kulit kayu akway 0,25% dapat memperpanjang umur simpan bakso pada suhu kamar selama 3 hari

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak terhadap bakteri uji

Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter Zona Hambat Pertumbuhan (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
0	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
5	3,88±0,13 ^{bcd}	7,45±0,35 ^{defgh}	2,65±0,00 ^{ab}	7,50±0,00 ^{defgh}
10	5,18±0,23 ^{bcdde}	8,45±1,35 ^{efgh}	3,30±0,00 ^{abc}	9,00±0,00 ^{fghi}
15	6,00±0,35 ^{bcddef}	9,23±0,23 ^{fghi}	3,38±0,03 ^{bc}	9,33±0,33 ^{fghi}
20	6,50±0,45 ^{cdef}	9,95±0,30 ^{ghi}	4,45±0,00 ^{bcd}	10,93±0,58 ^{hi}
25	6,80±0,60 ^{cdefg}	10,55±0,40 ^{hi}	4,95±0,45 ^{bcdde}	12,58±0,28 ⁱ
Penicilin G	27,40±0,65	7,50±0,50	0,00±0,00	57,00±0,00

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf superscript yang sama menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata pada uji BNJ α-0.01.

Tabel 2. Konsentrasi penghambatan minimum

Jenis Bakteri	Regresi Linear	R ²	KPM (%)
<i>E. coli</i>	Y=19,692X-17,277	0,997	0,57
<i>B. cereus</i>	Y=34,033X-2,889	0,965	0,27
<i>P. aeruginosa</i>	Y=10,185X-11,422	0,814	0,77
<i>S. aureus</i>	Y=56,519X-44,713	0,832	0,55

tanpa pertumbuhan bakteri sebaliknya perlakuan tanpa ekstrak terjadi pertumbuhan bakteri sebesar 4,33 log CFU/g pada penyimpanan hari ke-1. Penggunaan ekstrak yang lebih tinggi, yaitu 0,50% dan 0,75% dapat memperpanjang umur simpan bakso masing-masing 6 dan 8 hari tanpa pertumbuhan bakteri.

Menurut SNI (2014), jumlah maksimum bakteri dalam bakso daging adalah 5,00 log CFU/g. Berdasarkan standar mutu tersebut maka penggunaan ekstrak etil asetat kulit kayu akway sebesar 0,25% dapat memperpanjang masa simpan sampai dengan 8 hari dengan jumlah bakteri 4,63 log CFU/g. Konsentrasi ekstrak sebesar 0,50% dan 0,75% memperpanjang masa simpan 8 hari tetapi masing-masing dengan jumlah bakteri lebih rendah, yaitu 3,26 dan 0,00 log CFU/g.

Kemampuan antibakteri ekstrak etil asetat kulit kayu akway dalam memperpanjang masa simpan bakso daging sapi pada suhu ruang lebih kuat dibandingkan tepung mangrove jeruju, ekstrak daun salam dan ekstrak bawang putih. Penambahan tepung daun mangrove jeruju sebesar 15% dan ekstrak daun salam 3% dapat memperpanjang masa simpan bakso ayam sampai 2 hari dengan masing-masing jumlah bakteri 5,14 dan 5,00 log CFU/g (Yulianti dan Cakrawati, 2017; Jayadi *et al.*, 2018), sedangkan perendaman bakso daging sapi dalam ekstrak bawang putih konsentrasi 20-60% selama 15 menit dapat memperpanjang masa simpan sampai 5 hari dengan jumlah bakteri < log 5,00 CFU/g (Tamal dan Aryanto, 2018). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat kulit kayu akway berpotensi digunakan sebagai pengawet bakso daging sapi pada penyimpanan suhu ruang.

Aktivitas Antibakteri dalam Suhu *Refrigerator*

Aplikasi ekstrak etil asetat kulit kayu akway pada bakso daging sapi selama penyimpanan di dalam *refrigerator* bertujuan untuk mengetahui dampak penyimpanan suhu rendah 4-5°C terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat kulit kayu akway terhadap pertumbuhan bakteri dalam bakso. Hasil menunjukkan bahwa penyimpanan bakso dengan perendaman dalam larutan ekstrak 0% di dalam *refrigerator* dapat menghambat pertumbuhan bakteri selama 6 hari sedangkan penyimpanan bakso dengan perendaman pada konsentrasi ekstrak 0,25-0,75% dapat menghambat pertumbuhan bakteri selama 15-33 hari (Figur 2).

Penyimpanan bakso daging sapi tanpa perendaman dalam ekstrak akway di dalam *refrigerator* (4-5°C) dapat memperpanjang masa simpan sampai 9 hari dengan jumlah bakteri sebesar 2,68 log CFU/g, sedangkan bakso dengan perlakuan perendaman ekstrak akway pada konsentrasi 0,25, 0,50, dan 0,75% dapat memperpanjang masa simpan sampai dengan 33 hari masing masing dengan jumlah bakteri 4,53, 2,79, dan 0,00 log CFU/g. Hasil yang sama juga dilaporkan pada bakso daging babi dan bakso daging ayam. Penambahan ekstrak *holy basil*, merica hijau, ketumbar dan tumerik sebesar 0,2% dapat memperpanjang masa simpan bakso daging babi pada penyimpanan 4°C

selama 9 hari sedangkan yang tanpa ekstrak, masa simpannya < 6 hari dengan jumlah bakteri ≤ 5,00 log CFU/g (Nugboon dan Intarapichet, 2015). Penambahan tepung daun mangrove jeruju sebesar 5-15% dapat memperpanjang masa simpan bakso daging ayam di dalam *refrigerator* 10°C selama 4-6 hari dengan jumlah bakteri 4,87-4,95 log CFU/g sedangkan bakso tanpa tepung mangrove jeruju hanya mampu bertahan 3 hari dengan jumlah bakteri 4,81 log CFU/g (Jayadi *et al.*, 2018).

Aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat kulit kayu akway menghambat pertumbuhan bakteri dalam bakso daging sapi selama penyimpanan suhu rendah diduga disebabkan penyimpanan pada suhu rendah berdampak pada penurunan aktivitas metabolisme dan perubahan membran sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri. Menurut Ray (2005), penyimpanan pada suhu rendah menyebabkan aktivitas metabolik, reaksi enzimatik dan laju pertumbuhan bakteri menurun dan juga fase adaptasi (lag phase) bakteri dalam lingkungan tumbuh menjadi lebih lama.

Perlakuan perendaman bakso daging sapi dalam larutan ekstrak etilasetat kulit kayu akway dan penyimpanan suhu rendah di dalam *refrigerator* terbukti memiliki efek sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada bakso daging sapi selama penyimpanan. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit kayu akway sangat berpotensi sebagai sumber antibakteri alami dalam pengawetan bakso daging sapi pada penyimpanan suhu rendah di dalam *refrigerator*.

Kesimpulan

Ekstrak etil asetat kulit kayu akway dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dengan konsentrasi penghambatan minimum 0,27-0,77% serta dapat mempertahankan kualitas bakso hingga 8 hari. Penyimpanan pada *refrigerator* dapat memperpanjang masa simpan hingga 33 hari, oleh karena itu, ekstrak etilasetat kulit kayu akway sangat berpotensi untuk pengawet bakso daging sapi.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi sebagai penyandang dana penelitian.

Daftar Pustaka

- Ambarwati, N.S.S., Malik, A., Listari, A.T., Nirwana, Elya, B., Hanafi, M. 2017. Antibacterial activity of fractions of ethylacetate extracts of *Garcinia lattissima* Miq. Fruits. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical research. The 1st Physics and Technologies in Medicine and Dentistry Symposium. DOI:10.22159/ajpcr.2017.v10s5.23104.
- ARDB. 2009. Antibiotic Resistance Data Base: *Pseudomonas aeruginosa*. Center for Bioinformatic and Computational: Biology University of Maryland college Park MD20742.

- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6(2):71-79. DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- Bazzaz, B.S.F., Khayatb, M.H., Emamic, S.A., Asilic, J., Sahebkar, A., Neishabory, E.J. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of methanol, dichloromethane, and ethyl acetate extracts of *Scutellaria litwinowii*. *ScienceAsia* 37:327-334. DOI:10.2306/scienceasia1513-1874.2011.37.327
- Bereksi, M.S., Hassaïne, H., Bekhechi, C., Abdelouahid, D.E. 2018. Evaluation of antibacterial activity of some medicinal plants extracts commonly used in Algerian traditional medicine against some pathogenic bacteria. *Pharmacognosy Journal* 10(3): 507-512. DOI:10.5530/pj.2018.3.83.
- Bloomfield, S. 1991. Methods For Assessing Antimicrobial Activity. In S.P. Denyer, H.B. Hugo. *Mechanism of Action of Chemical Biocides Their Study and Exploitation*. Page 1-22. Scientific Publication, London.
- Cepeda, G.N., Lisangan, M.M., Roreng, M.K., Permatasari, E.I., Manalu, D.C., 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. DOI:10.17728/jatp.3239.
- Cepeda, G.N., Lisangan, M.M., Silamba, I. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway (*Drimys piperita* Hook f.) terhadap bakteri patogen. *Agritech* 35(2): 170-177. DOI:10.22146/agritech.9403.
- Cepeda, G.N., Lisangan, M.M., 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. DOI:10.17728/jatp.4692.
- Cepeda, G.N., Santoso, B.B., Lisangan, M.M., Silamba, I. 2011a. Komposisi kimia minyak atsiri kulit kayu 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. DOI:10.7454/mss.v15i1.880.
- Compean, K.L., Ynalvez, R.A. 2014. Antimicrobial activity of plants secondary metabolites : A review. *Research Journal of Medicinal Plant* 8(5): 204-213. DOI: 10.3923/rjmp.2014.204.213.
- Ghaima, K.K., Hashim, N.M., Ali, S.A. 2013. Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3(5): 96-99. DOI: 10.7324/JAPS.2013.3518.
- Haghgoo, R., Mehran, M., Afshari, E., Zadeh, H. F., Ahmandvand, M. 2017. Antibacterial Effects of Different Concentrations of *Althaea officinalis* Root Extract versus 0.2% Chlorhexidine and Penicillin on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* (In vitro). *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry* 7(4): 180-185. DOI:10.4103/jispcd.JISPCD_150_17.
- Higginbotham, K.L., Burriss, K.P., Zivanovic, S., Davidson, P.M., Stewart Jr, C.N. 2014. Antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extracts against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in a microbiological medium and milk of various fat concentrations. *Journal of Food Protection* 77(2):262-268. DOI:10.4315/0362-028X.JFP-13-313.
- Iliev, I., Marhova, M., Gochev, V., Tsankova, M., Trifonova, S. 2015. Antibiotic resistance of Gram negative benthic isolated from the sediments of Kardzhali Dam (Bulgaria). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 29(2): 274-280. DOI:10.1080/13102818.2014.998160.
- Jayadi, F., Sukainah A., Rais, M. 2018. Pemanfaatan tepung daun mangrove jeruju (*Acanthus ilicifolius*) sebagai pengawet alami bakso ayam. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian* 4(2):S1-S13. DOI:10.26858/jptp.v4i0.6906.
- Kim, S., Ruengwilysup, C., Fung, D.Y.C. 2004. Antibacterial effect of water-soluble tea extracts on foodborne pathogens in laboratory medium and in a food model. *Journal of Food Protection* 67(11):2608-2612. DOI:10.4315/0362-028x-67.11.2608.
- Li, J., Xie, S., Ahmed, S., Wang, F., Gu, Y., Zhang, C., Chai, X., Wu, Y., Cai, J., Cheng, G. 2017. Antimicrobial activity and resistance: Influencing factors. *Frontiers in Pharmacology* 8(364):1-11. DOI:10.3389/fphar.2017.00364.
- Mercier, B., Frost, J., Frost, M. 2009. The essential oil of turpentine and its major volatile fraction (α - and β -pinene): A review. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 22(4):331-342. DOI:10.2478/v10001-009-0032-5.
- Nugboon, K., Intarapichet, K. 2015. Antioxidant and antibacterial activities of Thai culinary herb and spice extracts, and application in pork meatballs. *International Food Research Journal* 22(5): 1788-1800.
- Ray, B. 2005. *Fundamental food microbiology* 3rd edition. Page 467-474. CRC Press, New York.
- Saeidi, S., Hassanpour, K., Ghamgosha, M., Heiat, M., Taheri, R.A., Mirhosseini, A., Farnoosh, G. 2014. Antibacterial activity of ethyl acetate and aqueous extracts of *Mentha longifolia* L. and hydroalcoholic extract of *Zataria multiflora* Boiss plants against important human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 7(1): S186-S189. DOI:10.1016/S1995-7645(14)60229-7.
- Seow, Y.X., Yeo, C.R., Chung, H.L., Yuk, H.-G. 2014. Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54:625-644. DOI:10.1080/10408398.2011.599504.

- SNI. 2014. Standar Nasional Indonesia: Bakso daging. Badan Standardisasi Nasional, Indonesia.
- Sholpan, A., Lamas, A., Cepeda, A., Franco, C.M. 2019. Raw poultry meatballs with soya flour: Shelf life and nutritional value. *Foods and Raw Materials* 7(2): 396-402. DOI:10.21603/2308-4057-2019-2-396-402.
- Stevens, P.F. 2017. Angiosperm Phylogeny. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Retrieved Maret 2, 2019.
- Syakir, M., Bermawie, N., Agusta, H., Paysei, E.N. 2011. Karakterisasi sifat morfologi dan penyebaran kayu akway (*Drimys* sp.) di Papua Barat. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 17(4):169-173. DOI: 10.21082/litri.v17n4.2011.163%20-%20168.
- Tamal, M.A., Aryanto, D. 2018. Efektifitas ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L) dalam menghambat perkembangbiakan bakteri *Escherichia coli* pada bakso sapi. *Ziraa'ah* 43(3):321-331. DOI:10.31602/zmip.v43i3.1531.
- Tommasen, J. 2010. Assembly of outer-membrane proteins in bacteria and mitochondria. *Microbiology* 156:2587-2596. DOI: 10.1099/mic.0.042689-0.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., Ren, L. 2015. Antibacterial activities of flavonoids: Structure-activity relationship and mechanism. *Current Medicinal Chemistry* 22(1):132-149. DOI:10.2174/092986732201141126144956.
- Yulianti, T., Cakrawati, D. 2017. Pengaruh penambahan ekstrak daun salam terhadap umur simpan bakso. *Agrointek* 11(2):37-44. DOI:10.21107/agrointek.v11i2.
- Zhang, H., Wu, J., Guo, X. 2016. Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *Food Science and Human Wellness* 5: 39–48. DOI: 10.1016/j.fshw.2015.11.003.