

**PENGARUH PEMANASAN, TINGKAT KEASAMAN (pH) DAN  
KONSENTRASI GARAM TERHADAP STABILITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KULIT KAYU  
AKWAY (*Drimys piperita* Hook.F.)**

Oleh :

**Bianka Margaretha Simatupang, S.farm, M. farm**  
0108038705

**Sarina permata**  
1901021012

*Universitas audi Indonesia*

*Jalan bunga N'cole raya kelurahan No.83 kemenagan Tani*

*Kec, Medan tuntungan, kota medan sumatera utara*

[Biankamargaretha08@gmail.com](mailto:Biankamargaretha08@gmail.com)

**Abstrak**

Akway (*Drimys piperita* Hook.f.) adalah tumbuhan berkayu, aromatik dan hijau sepanjang tahun dan tergolong dalam suku winteraceae. Tumbuhan ini digunakan oleh Suku Sougb yang bermukim di desa Surey Distrik Anggi, untuk mengobati malaria dan meningkatkan vitalitas tubuh. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan stabilitas antimikroba ekstrak kulit kayu akway pada waktu pemanasan ekstrak pada 100°C, tingkat keasaman (pH) dan kandungan garam. Pengujian antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar terhadap empat spesies bakteri yaitu *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit kayu akway hanya dapat menghambat bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi hambat minimum masing-masing adalah 0,99% dan 0,89%. Tingkat konsentrasi dan keasaman (pH) mempengaruhi kapasitas antimikroba ekstrak etanol kulit kayu akway. Sedangkan perlakuan pemanasan pada suhu 100°C dengan lama pemanasan sampai dengan 25 menit dan penambahan garam NaCl sampai konsentrasi 5% tidak berpengaruh pada stabilitas antimikroba ekstrak etanol kulit kayu akway.

**Effect Of Heating, Acidity Levels (Ph) And  
Salt Concentrations On Stability Of Ethanol Extracts Of  
Akway (*Drimys Piperita* Hook.F.) Barks**

**Abstract**

Akway (*Drimys piperita* Hook.f.) is a woody, evergreen and aromatic plant that belongs to family Winteraceae. This plant is used by Sougb tribe lived in Surey village, District of Anggi, to enhance the vitality of body. The objectives of the research were to determine antimicrobial stability of akway bark extracts influenced by heating time of 100°C, levels of acidity (pH) and salt contents. Antimicrobial assays were done by using agar well diffusion method against four species of bacteria, i.e. *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923. The results showed that ethanolic extracts of akway bark only inhibited growth of *B. cereus* and *S. aureus* with minimum inhibitory concentration 0,99% and 0,89%. The levels of concentration and acidity of ethanol extracts influenced the antimicrobial capacity of

extracts, whereas heating time on 100°C for 25 minutes and salt contents up to 5% of extract solution did not influence the antimicrobial stability of akway bark extracts.

## PENDAHULUAN

Akway (*Drimys piperita* Hook.f.) merupakan tumbuhan endemik Papua, yang termasuk dalam tumbuhan berkayu, berdaun hijau aromatik dan dikelompokkan ke dalam suku Winteraceae (Stevens, 2017). Akway digunakan sebagai tumbuhan obat tradisional etnis Sougb di Distrik Sururey Papua untuk mengobati malaria dan meningkatkan daya tahan tubuh ketika melakukan pekerjaan berat (Syakir dkk., 2011). Beberapa penelitian tentang kandungan senyawa fitokimia akway dan daya antimikrobanya telah dilakukan. Cepeda dkk. (2010) melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit kayu *D. piperita* mengandung kelompok senyawa fenolik (flavonoid dan tanin), terpenoid, saponin dan alkaloid. Akway juga dilaporkan mengandung sejumlah senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba dalam komponen minyak atsirinya. Komposisi utama penyusun minyak atsiri daun akway adalah senyawa  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, linalool dan nerolidol (Cepeda et al., 2011a), sedangkan pada minyak atsiri kulit kayunya tersusun dari  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen dan 4-terpineol (Cepeda et al., 2011b). Senyawa-senyawa seperti  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, terpeniol telah dilaporkan merupakan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba yang kuat (Da Silva et al., 2012; Wang et al., 2012).

Ekstrak etanol dari berbagai sumber tumbuhan dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan berbagai spesies bakteri *in vitro*. Cepeda et al. (2012) melaporkan, bahwa ekstrak etanol sereh dapat menghambat pertumbuhan dan produksi toksin *Escherichia coli* verotoksigenik. Ekstrak etanol daun *Taraxacum mongolicum* memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* (Qiao & Sun, 2014), sedangkan ekstrak etanol *Zingiber officinale* efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Enterococcus faecalis* (Grace et al., 2017). Beberapa penelitian melaporkan bahwa perlakuan panas, pH dan konsentrasi garam sangat berpengaruh terhadap aktivitas antimikroba ekstrak. Ginovyan (2017) melaporkan bahwa pemanasan ekstrak pada suhu 60-121°C selama 30 dan 60 menit berpengaruh nyata terhadap aktivitas antimikroba ekstrak *Agrimonia eupatoria*. Aktivitas antimikroba ekstrak daun *Carica papaya* meningkat dengan menurunnya pH (Romasi et al., 2011). Konsentrasi garam sampai dengan 10% cenderung meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak *Nicolaia speciosa* (Naufalin & Rukmini, 2018). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap bakteri-bakteri patogen penyebab penyakit dan untuk mengetahui pengaruh perlakuan panas, tingkat keasaman (pH) dan konsentrasi garam NaCl terhadap stabilitas ekstrak kulit kayu akway.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pertanian Universitas Papua Manokwari. Penelitian ini dilaksanakan bulan Maret sampai Agustus 2017. Persiapan Bahan Kulit kayu akway yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Distrik Anggi Kabupaten Pegunungan Arfak Papua Barat. Kulit kayu diperoleh dari tumbuhan akway dengan diameter batang utama  $\pm 8-10$  cm. Kulit kayu yang diperoleh dari batang utama dikeringanginkan pada suhu ruang selama kurang lebih 5-7 hari sampai kulit kayu menjadi mudah hancur. Kulit kayu yang sudah kering digiling dan diayak dengan ukuran 40 mesh. Bubuk yang diperoleh dikemas dalam kemasan plastik polietilen kapasitas 1 kg. Ekstraksi Proses ekstraksi dengan pelarut etanol absolut dilakukan menggunakan metode maserasi. Perbandingan bubuk kulit kayu akway dan pelarut etanol adalah 1:4 (100 gram bubuk kulit kayu akway ditambahkan

400 ml etanol). Proses ekstraksi dilakukan pada suhu ruang selama 72 jam dengan pengadukan menggunakan shaker incubator. Setelah proses maserasi selesai campuran disaring dengan kertas saring Whattmann no. 1 menggunakan pompa vakum. Larutan hasil penyaringan diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator Eyela N1000 pada suhu 40°C dengan kecepatan 60 rpm sampai ekstrak menjadi kental. Ekstrak yang diperoleh dilakukan penguapan sisa pelarut dalam refrigerator sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak hasil penguapan, disimpan dalam botol untuk digunakan dalam pengujian.

Persiapan Kultur Bakteri Kultur bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC10876, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Vial isolat kultur bakteri uji dibuka secara aseptik, kemudian ditambahkan nutrient broth (NB) sebanyak 1 ml dan diaduk hingga tercampur sempurna menggunakan vorteks. Campuran kultur dan medium NB dipipet dan dipindahkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 ml NB dan divorteks. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur yang telah tumbuh dalam medium NB, diinokulasi pada permukaan medium agar miring nutrient agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah terlihat pertumbuhan bakteri pada agar miring, kultur bakteri tersebut disimpan pada suhu kamar untuk digunakan dalam pengujian. Pengujian Daya Hambat pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Ekstrak Pengujian daya hambat ekstrak etanol kulit kayu akway dilakukan dengan metode agar well diffusion (Balouiri et al., 2016). Sebanyak 500 µl kultur bakteri uji (107 CFU/ml), yang telah ditumbuhkan dalam medium NB pada suhu 37°C selama 20 jam, disebarakan merata pada permukaan medium NA steril yang telah membeku dalam cawan petri. Kemudian pada media NA yang sudah membeku dibuat sumur dengan ukuran diameter 6 mm menggunakan tips. 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 dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona penghambatan (zona bening di sekitar sumur) diukur menggunakan caliper. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Penentuan nilai KHM dilakukan berdasarkan daya hambat ekstrak etanol pada berbagai konsentrasi menggunakan metode Bloomfield (1991), yaitu dengan membuat regresi linear antara nilai  $\ln C$  ( $\ln$  konsentrasi ekstrak) pada sumbu X, terhadap nilai kuadrat zona penghambatan ekstrak terhadap bakteri uji ( $Z^2$ ) pada sumbu Y. Persamaan regresi linear  $Y=a + bX$  yang berpotongan dengan sumbu X, pada nilai  $Y=0$  adalah titik  $M_x$  (nilai  $\ln$  konsentrasi). Nilai KHM adalah  $0,25 \times$  nilai konsentrasi ekstrak pada titik  $M_x$ . Aktivitas Antimikroba pada Pemanasan Suhu 100°C. Sebanyak 500 µl kultur bakteri uji (107 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 medium NA yang sudah membeku dibuat sumur dengan ukuran diameter 6 mm menggunakan tip. Masing-masing sumur dimasukkan ekstrak dengan konsentrasi 10% (b/v) sebanyak 60 µl yang telah dipanaskan pada suhu 100°C selama 5, 10, 15, 20 dan 25 menit dan dibandingkan dengan kontrol (tanpa pemanasan). Masing-masing perlakuan menggunakan 2 kali ulangan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona penghambatan (zona bening di sekitar sumur) diukur menggunakan caliper (Balouiri et al., 2016). Aktivitas Antimikroba pada Beberapa Tingkat Keasaman (pH) Sebanyak 500 µl kultur bakteri uji (107 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 medium NA yang sudah membeku dibuat sumur dengan diameter 6 mm. Masing-masing sumur dimasukkan ekstrak etanol dengan konsentrasi 10%(b/v) sebanyak 60 µl dengan perlakuan tingkat keasaman ekstrak, yaitu pH 4, 5, 6, 7 dan 8,5.

Tingkat keasaman ekstrak diatur dengan penambahan NaOH dan HCL 0,5 N. Masing-masing perlakuan menggunakan 2 kali ulangan, kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona penghambatan (zona bening di sekitar sumur) diukur menggunakan caliper (Balouiri et al., 2016). Aktivitas Antimikroba pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Garam Sebanyak 500 µl kultur bakteri uji (107 CFU/ml), yang telah ditumbuhkan dalam medium NB pada suhu 37°C selama 20 jam, disebarkan merata pada permukaan medium NA yang telah membeku dalam cawan petri. Kemudian pada medium NA yang sudah membeku dibuat sumur dengan diameter 6 mm menggunakan tips. Masing-masing sumur dimasukkan ekstrak etanol dengan konsentrasi 10% (b/v) sebanyak 60 µl yang mengandung garam NaCl masing-masing sebesar 0 (tanpa garam), 1, 2, 3, 4, dan 5% (b/v).

Masing-masing perlakuan menggunakan 2 kali ulangan, kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, diameter zona penghambatan (zona bening di sekitar sumur) diukur menggunakan caliper (Balouiri et al., 2016). Analisis Data Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok, dan data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis varian. Jika hasil analisis varian menunjukkan berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$  maka dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ)  $\alpha=0,05$ .

## 2. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Daya Hambat Ekstrak Etanol pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Pengujian daya hambat ekstrak etanol kulit kayu akway dilakukan pada konsentrasi 0- 25% (b/v). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit kayu akway bersifat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, yaitu bakteri *B. cereus* dan *S. aureus* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif, yaitu *E. coli* dan *P. aeruginosa*. Peningkatan penghambatan ekstrak kulit kayu akway terhadap pertumbuhan bakteri sebanding dengan jumlah senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba yang terkandung dalam ekstrak pada konsentrasi yang semakin tinggi. Menurut Seow et al., (2014), aktivitas antimikroba akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi senyawa aktif. Peningkatan konsentrasi senyawa aktif dalam ekstrak akan meningkatkan laju difusi senyawa tersebut dalam medium agar sehingga diameter zona hambat semakin besar. *aeruginosa*.

Hasil penelitian yang sama juga ditemukan pada ekstrak etanol *Cassia alata*, *Centella asiatica*, *Curcuma longa* dan *Zingiber officinale*. Ekstrak etanol dari tumbuhan obat tersebut tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *P. Aeruginosa* (Valle Jr. et al., 2015). Ketidakmampuan ekstrak akway dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *P. aeruginosa*, diduga disebabkan kedua bakteri ini merupakan kelompok bakteri Gram negatif yang memiliki lapisan membran terluar (outer membrane) yang dapat mencegah masuknya antimikroba ke dalam sel. Menurut Tommassen (2010), lapisan outer membrane bakteri Gram negatif yang tersusun dari gliserofosfolipida dan lipopolisakarida berfungsi sebagai permeability barrier yang melindungi sel dari senyawa-senyawa yang berbahaya seperti zat-zat antimikroba yang berasal dari lingkungan. Bakteri *P. aeruginosa* ATCC27853 juga dilaporkan resisten terhadap antibiotik (Iliev et al., 2015). Ketahanan bakteri ini terhadap senyawa antimikroba atau antibiotik penisilin 10% diduga disebabkan oleh kemampuan

bakteri ini memompa senyawa antimikroba atau antibiotik keluar sel melalui sistem multidrug efflux pump (ARDB, 2009). Konsentrasi Penghambatan Minimum (KHM) KHM adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam suatu medium. Hasil menunjukkan bahwa KHM ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap bakteri *B. cereus* dan *S. aureus*. Aktivitas Antimikroba Ekstrak pada Pemanasan 100°C

Pengujian pengaruh pemanasan ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap daya antimikrobanya dilakukan pada suhu 100°C selama 0-25 menit. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan panas senyawa antimikroba yang terdapat dalam ekstrak. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa pemanasan ekstrak pada suhu 100°C selama 0-25 menit tidak berpengaruh nyata terhadap kapasitas antimikroba ekstrak etanol kulit kayu akway. Perlakuan pemanasan ekstrak etanol kulit kayu akway yang tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antimikrobanya menunjukkan bahwa senyawa antimikroba yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit kayu akway stabil terhadap pemanasan pada suhu 100°C dengan waktu pemanasan sampai 25 menit. Hasil yang sama dilaporkan pada ekstrak etanol *Coriandrum sativum* dan *Panax ginseng* dimana perlakuan pemanasan tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antimikroba ekstrak (Cao et al., 2012; Na et al., 2018).

#### Aktivitas Antimikroba Ekstrak pada Beberapa Tingkat Keasaman (pH)

Pengujian pengaruh tingkat keasaman ekstrak etanol terhadap aktivitas antimikrobanya dilakukan pada pH 4-8,5. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pH terhadap stabilitas senyawa antimikroba dalam ekstrak. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pH tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antimikroba ekstrak etanol kulit kayu akway. Daya hambat ekstrak etanol kulit kayu akway pada pH 4-8,5 terhadap *B. cereus* dan *S. aureus* masing-masing sebesar 9,85-12,30 mm dan 10,00-10,05 mm (Tabel 4.). Tabel 4. menunjukkan bahwa senyawa antibakteri ekstrak etanol kulit kayu akway stabil terhadap perlakuan pH 4-8,5. Namun demikian terdapat kecenderungan peningkatan daya hambat ekstrak etanol kulit kayu akway dengan menurunnya pH pada bakteri *B. cereus*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *B. cereus* lebih rentan terhadap perubahan pH dibandingkan dengan *S. aureus*. Kerentanan *B. cereus* terhadap perubahan pH diduga karena rentang pH pertumbuhan bakteri ini lebih sempit dibandingkan *S. aureus*. Batt (2000) melaporkan bahwa rentang pH pertumbuhan *B. cereus* adalah pH 4,9-9,3 sedangkan *S. aureus* memiliki pH pertumbuhan 4,0-9,8 (Jay et al., 2005).

#### Aktivitas Antimikroba Ekstrak pada Beberapa Konsentrasi Garam

Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak etanol pada beberapa tingkat konsentrasi garam NaCl dilakukan pada konsentrasi 0-5%. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh garam terhadap daya antimikroba ekstrak etanol kulit kayu akway. Hasil menunjukkan perlakuan konsentrasi garam sampai dengan 5% tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap kapasitas antimikroba ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *B. cereus* dan *S. aureus*. Daya hambat ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *B. cereus* dan *S. aureus* pada konsentrasi garam 0-5% masing-masing adalah 10,05-10,59 mm dan 10,10-10,40 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi garam 5% cenderung tidak dapat meningkatkan kapasitas antimikroba ekstrak etanol kulit kayu akway. Hal tersebut diduga disebabkan konsentrasi garam 5% tidak menghambat pertumbuhan *B. cereus* dan *S. aureus*. Tsai et al. (2011) melaporkan bahwa bakteri *S. aureus* dapat tumbuh pada konsentrasi garam NaCl sampai 15% sedangkan *B. cereus* dapat tumbuh pada konsentrasi garam sebesar 5% (Patra & Baek, 2016).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit kayu akway merupakan ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri spektrum sempit karena secara selektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing 9,9 dan 8,9 mg/ml. Lama pemanasan ekstrak pada 100°C selama 25 menit, tingkat keasaman (pH 4-8,5) dan konsentrasi garam NaCl 5% tidak berpengaruh nyata terhadap stabilitas antibakteri ekstrak etanol kulit kayu akway.

## DAFTAR PUSTAKA

- 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. <http://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.
- Batt, C. (2000). *Bacillus cereus*. in R. B. Robinson, C. A. Batt & P. D. Patel, *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 119-124). London: Academic Press.
- Bloomfield, S. (1991). Methods for Assesing Antimicrobial Activity. in S. P. Denyer & H. B. Hugo, *Mechanism of Action of Chemical Biocides Their Study and Exploitation* (pp. 1-22). London: Scientific Publication.
- Cao, X. Z., You. J. M., Lin. X. S., & Zhang, Y. L. (2012). Antimicrobial Activity of The Extracts from *Coriandrum sativum*. *International Journal of Food Nutrition and Safety*, 1(2), 54-59.
- Cepeda, G. N., Hariyadi, R. D., & Supar. (2012). Penghambatan Ekstrak Etanol Sereh (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) terhadap Produksi Verotoksin *Escherichia coli* Verotoksigenik. *Jurnal Natur Indonesia*, 13(1), 72-76. <https://doi.org/10.31258/jni.13.01.%p>
- 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. <https://doi.org/10.7454/mss.v15i1.880>.
- Cepeda, G. N., Santoso, B. B., Lisangan, M. M., & Silamba, I. (2010). Penapisan Fitokimia Akway. *Jurnal Agrotek*, 1(8), 28-33.
- 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. <https://doi.org/10.3390/molecules17066305>.
- Ginovyan, M. M. (2017). Effect of Heat Treatment on Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Some Armenian Herbs. *Chemistry and Biology*, 51(2), 113-117.
- Grace, U. S., Sankari, M., & Gopi. (2017). Antimicrobial Activity of Ethanolic Extract *Zingiber officinale* an In Vitro Study. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(9), 1417-1419.
- 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. <https://doi.org/10.1080/13102811.2014.998160>.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Goleden, D. A. (2015). *Modern Food Microbiology* 7th edition (pp. 545-560). USA: Springer. Mardiana, R. N., & Handayani, N. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambilotto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofarmasi*, 14 (1), 19-24. <https://doi.org/10.13057/biofar/fl40103>.
- 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 Science and Biotechnology*, 27(1), 203–210. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0209-9>.
- Naufalin, R., & Rukmini, H. S. (2018). Antibacterial Activity of Kecombrang Flower Extract (*Nicolaia speciosa*) Microencapsulation with Food Additive Materials Formulation. *IOP Conference. Series: Earth and Environmental Science* 102 (2018) 012035. <https://doi:10.1088/1755-1315/102/1/012035>.
- Ohikhena, F. U., Wintola, O. A., & Afolayan, A. J. (2017). Evaluation of the Antibacterial and Antifungal Properties of *Phragmanthera capitata* (Sprengel) Balle (Loranthaceae), a Mistletoe Growing on Rubber Tree, Using the Dilution Techniques. *The Scientific World Journal*, 2017, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2017/9658598>
- 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. <https://doi.org/10.3390/molecules21030388>.
- Qiao, H., & Sun, T. J. (2014). Antibacterial Activity of Ethanol Extract and Fractions Obtained from *Taraxacum mongolicum* Flower. *Resource Journal of Pharmacognosy*, 1(4), 35-39. 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. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 625-644. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.599504>.
- Shariatifar, N., Fathabad, A. E., Khaniki, G. J., & Nasrabadi, H. G. (2014). Evaluation of the Antibacterial Activity of Essential Oil and Aqueous and Ethanolic Extracts of *Quercus infectoria* Leaves on Food-Borne Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 5 (10), 709-713. Singh, N., Gupta, S., & Rathore, V. (2017). Comparative Antimicrobial Study of Ethanolic Extract of Leaf and Rhizome of *Curcuma longa* Linn. *Pharmacognosy Journal*, 9(2), 208-212. <https://doi.org/10.5530/pj.2017.2.35>.
- Stevens, P. F. (2017, July 4). [http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/July 4, 2017](http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/July%204,%202017). 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 Mormologi dan Penyebaran Kayu Akway (*Drimys* sp.) di Papua Barat. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 17(4), 169-173. <https://doi.org/10.21082/littri.v17n4.2011.163%20-%20168>.
- Tommasen, J. (2010). Assembly of Outer-Membrane Proteins in Bacteria and Mitochondria. *Microbiology*, 156, 2587-2596. <https://doi.org/10.1099/mic.0.042689-0>.
- 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. Microbiology*, 11(13), 1-12. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-13>.
- Valle Jr, D. L., Andrade, J. I., Puzon, J. J., Cabrera, E. C., & Rivera, W. L. (2015). Antibacterial Activities of Ethanol Extracts of Philippine Medicinal Plants against Multidrug-Resistant Bacteria. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(7), 532-540. <https://doi.org/10.1016/j.apjtp.2015.04.005>.
- Wang, W., Li, N., Luo, M., Zu, Y., & Efferth, T. (2012). Antibacterial Activity and Anticancer Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Compared to that of Its Main Components. *Molecules*, 17, 2704-2713. <https://doi.org/10.3390/molecules17032704>.