

# Uji Daya Hambat Asap Cair Sabut Pinang terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Iryani<sup>1</sup>, Suryelita<sup>2</sup>, Dwi Kurnia Putri<sup>3</sup>

Chemistry Department State University of Padang, State University of Padang, Indonesia

<sup>1</sup> in.iryani@yahoo.co.id, <sup>2</sup>elita@fmipa.unp.ac.id, <sup>3</sup>dwikurniaputri1@gmail.com

**Abstract**— This research was to study about influence of increasing concentrations of areca catechu's liquid smoke for inhibit phatogenic and food spoilage bacteria activities by using paper disc method. Variation concentration of areca catechu's liquid smoke was use 10, 15, 20, 25, 35, 50, 75 and 100%(v/v) to inhibit *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Result of this research showed maximum inhibition of areca catechu's liquid smoke is at 100% concentration with inhibit diameter 18,3mm for *Bacillus cereus* and 16 mm for *Pseudomonas aeruginosa*. GC-MS identified important components in areca catechu's liquid smoke as bacteria activities inhibitor are phenol derivate and acetic acid.

**Keywords**—liquid smoke, bacteria activities inhibitor, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*

## I. PENDAHULUAN

Makanan merupakan salah satu kebutuhan pokok bagi kehidupan manusia. Didalam makanan terkandung senyawa-senyawa seperti: karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral. Senyawa-senyawa tersebut diperlukan untuk pertumbuhan, memelihara serta memperbaiki jaringan tubuh dan menghasilkan energi untuk kepentingan kegiatan manusia. Bahan pangan yang dibutuhkan tersebut dapat berasal dari tumbuh-tumbuhan dan hewan. Bahan tersebut apabila tidak diolah dan dibiarkan saja akan mengalami pembusukan disebabkan oleh bakteri patogen<sup>[1]</sup>. Pencemaran makanan oleh bakteri dapat dicegah melalui proses pengawetan makanan. Salah satu teknik pengawetan yang sedang dikembangkan sekarang adalah pengawetan dengan asap cair.

Asap cair merupakan hasil kondensasi dari pirolisis bahan yang mengandung sejumlah besar senyawa yang terbentuk akibat pirolisis konstituen bahan seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin<sup>[8]</sup>. Pirolisis merupakan penguraian senyawa – senyawa organik seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin dengan cara pemanasan pada suhu tinggi tanpa bantuan oksigen<sup>[4]</sup>. Pada proses pembuatan asap cair senyawa-senyawa yang dapat dipirolisis adalah selulosa, hemiselulosa dan lignin pada suhu tinggi (200-450°C) menghasilkan asap yang bila dikondensasi menghasilkan asap cair yang mempunyai sifat spesifik. Selulosa dipirolisis pada suhu 240-350°C menghasilkan asam asetat dan homolognya serta senyawa karbonil. Selulosa bersama-sama dengan air dan bersama-sama lignin dapat membentuk furan dan fenol<sup>[3]</sup>. Hemiselulosa dipirolisis pada suhu 200-260°C menghasilkan furfural, furan, asam asetat dan homolognya. Lignin dipirolisis pada suhu 300-450°C menghasilkan senyawa yang berperan terhadap aroma asap dari produk-produk hasil pengasapan. Senyawa-

senyawa tersebut adalah fenol dan eter fenolik seperti guaikol serta turunannya<sup>[2]</sup>.

Asap cair dari berbagai sumber diketahui mengandung komponen-komponen kimia seperti fenol, karbonil, dan asam-asam karboksilat. Komponen-komponen kimia tersebut dapat berperan sebagai antioksidan dan antimikroba serta memberikan efek warna dan cita rasa khas asap pada produk pangan. Komponen kimia lain yang dapat terbentuk pada pembuatan asap cair adalah *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH) dan turunannya. Beberapa komponen tersebut bersifat karsinogenik. Benzopiren merupakan salah satu senyawa PAH yang diketahui bersifat karsinogenik dan biasa ditemukan pada produk pengasapan<sup>[1]</sup>. Fungsi komponen asap cair terutama adalah memberikan rasa, warna dan sebagai antibakteri serta antioksidan<sup>[3]</sup>. Asap cair memiliki banyak manfaat dan telah digunakan pada berbagai industri, seperti industri pangan, industri perkebunan dan industri kayu<sup>[7]</sup>.

Bakteri adalah organisme bersel tunggal terkecil. Ukuran bakteri secara umum sekitar 0,5 – 1,0 mikrometer. Sel bakteri terdiri dari sejumlah sitoplasma dan beberapa material inti (bakteri tidak memiliki nukleus). Sel dilindungi oleh dinding sel dan beberapa bakteri dikelilingi oleh kapsul atau lapisan tipis<sup>[9]</sup>. Berdasarkan respon terhadap pewarnaan dikenal bakteri gram positif (*Bacillus cereus*) dan bakteri gram negative (*Pseudomonas aeruginosa*). Mekanisme kerja senyawa antibakteri dalam membunuh bakteri yaitu merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel, menghambat sintesis protein, menghambat aktivitas enzim dan menghambat sintesa asam nukleat<sup>[6]</sup>.

## II. METODE PENELITIAN

### A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya : peralatan gelas termometer, inkubator, autoklaf, pipet ukur,

jangka sorong, pinset, cawan petri, kertas cakram, aluminium foil, kapas, jarum ose, *hot plate*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: *nutrient agar (NA)* *nutrient broth (NB)*, bakteri patogen (*B. cereus* dan *P. aureginosa*), *aquades* dan kloramfenikol.

#### B. Prosedur Kerja

##### 1) Sterilisasi alat

Peralatan kaca seperti cawan petri, pipet takar dicuci bersih dan dikeringkan kemudian sterilisasi.

##### 2) Persiapan stok bakteri uji

Medium yang digunakan adalah medium *Nutrient Agar (NA)*. Media NA dibuat dengan cara melarutkan 2 gram bubuk media NA dalam *aquades*, sampai volume 100 mL. Larutan media dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih dan bubuk media NA benar-benar larut, kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 30 psi dan suhu 121°C. Media yang telah steril dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 5 mL. Tabung reaksi selanjutnya dimiringkan agar media NA didalamnya membeku berbentuk miring. Setiap kultur bakteri diambil 1 ose dan digoreskan pada tabung reaksi berisi media NA miring, kemudian diinkubasi selama 18 jam dalam inkubator suhu 37°C

##### 3) Pembuatan Media Inokulum Bakteri

Medium yang digunakan untuk inokulum bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah medium *Nutrient Broth (NB)*. Sebanyak 2,8 gr NB dilarutkan dalam 100 mL *aquades* steril, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih. Larutan kemudian di sterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

##### 4) Persiapan Inokulum Bakteri Uji

Bakteri uji dari persediaan induk (stok) diambil sebanyak satu ose, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium *Nutrien Broth (NB)* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

##### 5) Pembuatan Larutan Asap Cair

Konsentrasi asap cair yang digunakan adalah konsentrasi dalam persen volume per volume (v/v) dengan konsentrasi yaitu 10, 15, 20, 25, 35, 50, 75 dan 100%. Asap cair dipipet sebanyak 10, 15, 20, 25, 35, 50, 75 dan 100 mL, kemudian masing-masing ditambahkan *aquades* sampai 100 mL. Sedangkan perlakuan konsentrasi pada *Kloramfenikol* sebagai kontrol positif digunakan dalam persen berat per volume (w/v), dengan konsentrasi yaitu sebesar 2% dan sebagai kontrol negatif adalah *aquades*.

##### 6) Pembuatan Media untuk Pengujian Aktivitas Antibakteri

Medium yang digunakan untuk pelaksanaan uji antibakteri adalah medium *Nutrient Agar (NA)*. Sebanyak 35,0 gram NA dilarutkan sampai 1000 mL *aquades* steril, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih. Larutan medium kemudian di sterilisasi dalam autoklaf pada suhu

121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit. Medium yang telah steril.

##### 7) Pengujian Antibakteri dengan Menggunakan Metoda Cakram Kertas

- 1 mL inokulum mikroba dimasukkan dalam cawan petri yang telah steril.
- Media NA steril yang masih cair ditunggu hingga suhunya  $\pm 45^{\circ}\text{C}$ . Dituangkan sebanyak 10 ml ke dalam cawan petri yang telah berisi inokulum mikroba dan dihomogenkan.
- Kertas cakram dicelupkan pada masing-masing konsentrasi asap cair yaitu 10, 15, 20, 25, 35, 50, 75 dan 100%, kemudian kertas cakram tersebut diletakan di atas permukaan lempeng agar menggunakan pinset.
- Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari ( $\pm 48$  jam). Kemudian diameter hambatan diamati dan diukur dengan menggunakan jangka sorong.
- Untuk kontrol negatif (*aquades*) dan kontrol positif (*Kloramfenikol*) dilakukan dengan cara yang sama dan pada waktu yang bersamaan.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

##### 1. Karakterisasi Asap Cair Sabut Pinang

Asap cair yang digunakan pada penelitian ini adalah asap cair sabut pinang, yang kemudian dikarakterisasi menggunakan GC-MS untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam asap cair tersebut. Kromatogram asap cair ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil kromatogram asap cair sabut pinang

Berdasarkan kromatogram diatas dapat diketahui senyawa yang terkandung di dalam asap cair sabut pinang dapat dilihat pada tabel 1.

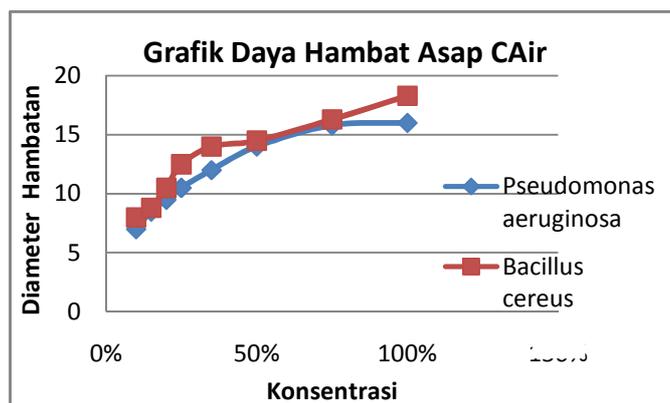
TABEL I.

SENYAWA YANG TERKANDUNG DALAM ASAP CAIR SABUT PINANG

No	Nama Senyawa	% Area	No	Nama Senyawa	% Area
1	Siringol	2,67	10	2(5H)-furanon	2,66
2	p-guaikol	2,61		2-propil-oktan	1,95
3	3metil-2-hidroksi-2-siklopentenon	2,06		Asam format	
	2,6-dimetoksi fenol		12	1,2-benzendiol	1,06
4	Asam asetat	2,67	13	3-metoksi pirikatekol	0,66
5	3-pentanon	36,33	14	Asam-4-hidroksi benzen sulfonik	1,99
6	2-furan metanol	2,82			
7	Propylen	3,02	15	1-siklopropil etanon,oxime	21,04
8	karbonat			Furankarbon	
	Dihidro-2(3H)- furan	6,95		Saeureklorid	
9		7,85	16		1,89
			17		2,10

2. Daya Hambat Asap Cair Sabut Pinang terhadap Bakteri uji

Asap cair sabut pinang diuji antibakterinya menggunakan metode cakram kertas terhadap dua bakteri uji, yaitu *Bacillus cereus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan hasil uji diketahui bahwa perbedaan perlakuan konsentrasi asap cair sabut pinang memberikan hasil berbeda. Hal tersebut terbukti dengan adanya perbedaan zona hambatan yang terbentuk. Hasil pengukuran diameter hambatan asap cair terhadap pertumbuhan bakteri uji dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar.2. Grafik daya hambat asap cair sabut pinang pada variasi konsentrasi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*

B. Pembahasan

1. Pirolisis Asap Cair Sabut Pinang

Dalam proses pirolisis, molekul organik dipanaskan dengan suhu tinggi. Suhu yang tinggi tersebut, menyebabkan putusnya ikatan sigma karbon-karbon sehingga memecah molekul besar menjadi fragmen-fragmen<sup>[4]</sup>. Reaksi-reaksi yang terjadi selama pirolisa adalah: penghilangan air dari bahan pada suhu 120-150<sup>0</sup>C, pirolisis hemiselulosa pada suhu 200-260<sup>0</sup>C, pirolisis selulosa pada suhu 240-350<sup>0</sup>C dan pirolisis lignin sekitar 350-450<sup>0</sup>C<sup>[2]</sup>.

Pada penelitian ini digunakan asap cair hasil pirolisis sabut pinang.. Dari hasil pirolisis tersebut dihasilkan senyawa-senyawa yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 1

Pirolisis senyawa hemiselulosa pada suhu 200 - 260<sup>0</sup>C menghasilkan senyawa furfural, furan, asam asetat dan homolognya. Pirolisis senyawa selulosa pada suhu 240 - 350<sup>0</sup>C menghasilkan senyawa asam asetat dan homolognya, bersama-sama dengan air dan kadang-kadang dengan lignin membentuk furan dan fenol. Pirolisis lignin pada suhu 350-450<sup>0</sup>C, menghasilkan fenol dan eter fenolik beserta turunannya<sup>[2]</sup>. Berdasarkan Tabel 1, hasil pirolisis senyawa selulosa dan hemiselulosa yang terdapat di dalam sabut pinang, menjadi 3-metil-2-hidroksi-2-pentenon, asamasetat, 3-pentanon, 2-furan methanol, propilenkarbonat, dihidro-2(3H)-furan, 2(5H)-furanon, 2-propil oktana, dan asam format. Senyawa lignin yang terdapat di dalam sabut pinang, dipirolisis menjadi siringol, p-guaikol, 2,6-dimetoksi fenol, 1,2-benzendiol, 3-metoksi pirikatekol, dan asam-4-hidroksi benzene sulfonik.

2. Antibakteri Asap Cair Sabut Pinang

Pada Gambar 2 terlihat bahwa terjadi peningkatan diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri sebanding dengan peningkatan konsentrasi asap cair sabut pinang. Semakin tinggi konsentrasi asap cair sabut pinang yang digunakan semakin besar hambatan bakterinya. Hal ini disebabkan karena meningkatnya kandungan senyawa antibakteri pada asap cair sabut pinang yang digunakan sesuai

pengencerannya. Diameter daya hambat asap cair terhadap bakteri untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar.3.



Bacillus 35%



Pseudomonas 35%



Bacillus 50%



Pseudomonas 50%



Bacillus 75%



Pseudomonas 75%



Bacillus 100%



Pseudomonas 100%

Gambar.3. Diameter hambatan asap cair terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Dari Gambar 2 diatas, daya hambat minimum asap cair sabut pinang untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan

*Bacillus cereus* terjadi pada konsentrasi 10% yaitu sebesar 7 mm dan 8 mm dan daya hambat terbesar yang didapat yaitu pada konsentrasi 100% yaitu sebesar 16 mm dan 18,3 mm. Sedangkan *aquades* sebagai kontrol negatif tidak mempunyai aktivitas antibakteri, artinya aktivitas antibakteri dari asap cair benar-benar berasal dari asap cair sabut pinang dan tidak ada pengaruh dari pelarutnya. Aktivitas antibakteri asap cair sabut pinang lebih kecil dibandingkan dengan *kloramfenikol* yaitu sebesar 20 cm yang merupakan kontrol positif. Karena pada asap cair, aktivitas antibakterinya tergantung pada jumlah senyawa fenol, senyawa karbonil dan asam organik yang terkandung di dalamnya dan itu sebanding dengan jumlah senyawa lignin dan selulosa yang terdapat pada bahan dasarnya. Karena fenol, senyawa karbonil dan asam organik adalah hasil pirolisis dari lignin dan selulosa<sup>[2]</sup>.

Data daya hambat antibakteri diatas juga memperlihatkan berbedanya pengaruh asap cair terhadap kedua bakteri uji. Daya hambat antibakteri terhadap *Bacillus cereus* lebih besar dibandingkan *Pseudomonas aeruginosa*. Ini disebabkan karena perbedaan struktur penyusun dari dinding sel kedua bakteri tersebut. Dinding sel *Bacillus cereus* terdiri dari lapisan lipid yang sangat tipis dan peptidoglikan sebanyak 50%, sedangkan dinding sel *Pseudomonas aeruginosa* terdiri dari dari tiga lapis, yaitu: lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan<sup>[9]</sup>. Ini menyebabkan *Bacillus cereus* lebih rentan terhadap senyawa anti bakteri daripada *Pseudomonas aeruginosa*.

Fenol dan turunannya dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena dalam konsentrasi yang rendah fenol dapat merusak permeabilitas membran sitoplasma. Kerusakan membran ini akan memungkinkan ion organik, nukleotida, koenzim dan asam amino ikut keluar sel. Selain itu, kerusakan ini akan mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel karena membran sitoplasma yang bertugas mengendalikan bahan-bahan penting dalam sel tidak berfungsi dengan baik. Hal ini akan mengganggu pertumbuhan bakteri, bahkan bisa menyebabkan kematian. Senyawa fenol bekerja pada membran sel dengan cara merusak lapisan fosfolipid pada membran. Gugus -OH pada fenol akan berikatan dengan sisi polar pada lapisan tersebut, sehingga menyebabkan gangguan dan mengurangi permeabilitas lapisan tersebut.

Asam(asam asetat) dari asap cair mengandung bahan aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri diakibatkan oleh molekul yang tidak terdisosiasi secara langsung dapat mengasamkan sitoplasma, merusak tegangan permukaan membran dan hilangnya transport aktif makanan melalui membran sehingga menyebabkan destabilisasi bermacam-macam fungsi dan struktur komponen sel<sup>[11]</sup>.

Berdasarkan keseluruhan hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat diperoleh hasil bahwa asap cair sabut pinang yang diujikan, memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram negatif dan gram positif. Dengan besar daya hambatnya dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang digunakan. Selain itu, asap cair sabut pinang juga tidak bersifat racun (toksik) bagi tubuh. Toksisitas asap cair sabut pinang telah diuji oleh Resi Herawati<sup>[5]</sup>, denganmenentukan LD<sub>50</sub> yang diketahui dari persentase

kematian hewan uji. Dari hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa asap cair sabut pinang relative kurang berbahaya. Itu disebabkan, setelah pemberian dosis sebesar 15.000 mg/kg dan diamati selama 14 hari, tidak terjadi penurunan berat badan ataupun kematian pada hewan uji. Dari kemampuan tersebut, asap cair sabut pinang dapat digunakan sebagai pengawet makanan yang relative kurang berbahaya.

#### IV. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- 1) Asap cair dari sabut pinang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab kerusakan pada bahan pangan yaitu *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
- 2) Aktivitas antibakteri maksimum terlihat pada konsentrasi 100% untuk *Bacillus cereus* memiliki diameter hambatan sebesar 18,3 mm dan untuk *Pseudomonas aeruginosa* memiliki diameter hambatan sebesar 16 mm.
- 3) Dari hasil data yang telah diperoleh dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri dari asap cair akan semakin meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi asap cair.

#### REFERENSI

- [1]. Budijanto, S dkk., 2008., *Identifikasi dan Uji Keamanan Asap Cair Tempurung Kelapa Untuk Produk Pangan*. *J. Pascapanen* 5(1) 2008 : 32-40
- [2]. Darmadji, P., 2002., *Optimasi Pemurnian Asap Cair dengan Metoda Redistilasi.*, Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, Vol XIII, No 3
- [3]. Darmadji, P., 2009., *Teknologi Asap Cair Dan Aplikasinya Pada Pangan Dan Hasil Pertanian.*, Universitas Gajah Mada., Yogyakarta
- [4]. Fessenden & Fessenden., 1982., *Kimia Organik Jilid 1.*, Erlangga., Jakarta
- [5]. Herawati, Resi., 2012., *Karakterisasi dan Uji Toksisitas Asap Cair Sabut Pinang (Areca catechuL).*, *Skripsi.*, FMIPA., Universitas Negeri Padang., Padang
- [6]. Muslimin, L.W., 1996. *Mikrobiologi Lingkungan.*, Unhas Press., Makasar.
- [7]. Nisandi. 2007. *Pengolahan dan Pemanfaatan Sampah Organik Menjadi Briket Arang dan Asap Cair*. SNT 2007
- [8]. Panagan, A.T., Syarif N., (2009)., *Uji Daya Hambat Asap Cair Hasil Pirolisis Kayu Pelawan (Tristania abavata) terhadap Bakteri Eschericia coli*. Sumatra Selatan., Universitas Sriwijaya
- [9]. Pelczar, J.M., E.C.S. Chan., 1986., *Dasar-dasar Mikrobiologi.*, UI Press., Jakarta.
- [10]. Suriawiria, U., 1995., *Pengantar Mikrobiologi Umum.*, Angkasa., Bandung
- [11]. Tranggono dan Purnama D., 1996. *Identifikasi Asap Cair Di Berbagai Jenis Kayu Dan Tempurung Kelapa*, Fakultas Teknologi Pertanian UGM.