

DAYA HAMBAT EKSTRAK BAHAN AKTIF BIJI PICUNG (*Pangium edule* Reinw.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI PENGHASIL HISTAMIN

Arifah Kusmarwati^{*)} dan Ninoek Indriati^{*)}

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak bahan aktif biji picung segar dan terfermentasi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri penghasil histamin. Bakteri penghasil histamin yang diuji daya hambatnya meliputi *Morganella morganii*, *Raoultella terigena*, *Enterobacter* sp., *Microbacterium testaceum*, *Staphylococcus* sp., dan *Micrococcus diversus*. Pengujian daya hambat dilakukan dengan metode difusi pada lempeng agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak akuades dan ekstrak etanol 50% dari biji picung segar mampu menghambat pertumbuhan bakteri penghasil histamin, sedangkan ekstrak n-heksana tidak memiliki daya hambat. Sementara itu, ekstrak akuades, etanol 50%, maupun n-heksana dari biji picung terfermentasi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri penghasil histamin.

ABSTRACT: *The inhibition rate of the active compound of Pangium edule Reinw. seeds extract on the growth of histamine producing bacteria. By: Arifah Kusmarwati and Ninoek Indriati*

An experiment was conducted to assess the ability of fresh and fermented Pangium edule Reinw. seeds extract to inhibit the growth of histamine producing bacteria. Histamine producing bacteria tested were Morganella morganii, Raoultella terigena, Enterobacter sp., Microbacterium testaceum, Staphylococcus sp., and Micrococcus diversus. Assessment of inhibition was determined by an agar diffusion method. The results showed that distilled water and 50% ethanol extracts of fresh Pangium edule Reinw. seed could inhibit the growth of histamine producing bacteria, whereas, the n-hexane extract did not show inhibition. On the other hand, fermented Pangium edule Reinw. seeds extracts using distilled water, 50% ethanol, and n-hexane showed no inhibition on the growth of histamine producing bacteria

KEYWORDS: *the inhibition rate, Pangium edule Reinw., histamine producing bacteria*

PENDAHULUAN

Histamin atau dikenal sebagai [2-(4-imidazolyl)ethylamine] terbentuk dari dekarboksilasi oleh enzim yang terdapat secara alami dalam jaringan daging ikan. Jumlah histamin yang dihasilkan melalui aktivitas enzim selama proses autolisis sangat rendah bila dibandingkan dengan histamin yang dihasilkan oleh aktivitas bakteri selama proses pembusukan berlangsung. Di bawah kondisi optimum, jumlah histamin yang dihasilkan melalui autolisis biasanya kurang dari 10–15 mg/100 g daging ikan. Selain itu produksi histamin juga dipengaruhi oleh suhu dan pH lingkungan (Witiak *et al.*, 1981; Kimata, 1961 *dalam* Rispayeni, 2005). Sementara itu, Nahla *et al.* (2005) telah melaporkan bahwa jumlah histamin yang berasal dari beberapa ikan spesies lokal di Mesir sebesar 7–26 mg/100 g daging ikan, sedangkan jumlah histamin yang berasal dari ikan impor berkisar antara 18–50 mg/100 g daging ikan. Isolat-isolat bakteri yang berasal dari sampel-sampel tersebut antara lain adalah *Micrococcus* sp., *Planococcus* sp., *Morganella*

morganii, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio angillarum*, *Proteus vulgaris*, dan *Aeromonas* spp.

Histamin merupakan salah satu senyawa yang seringkali dianggap sebagai penyebab utama keracunan makanan yang berasal dari ikan dan produk perikanan (Atmadjaja, 1994 *dalam* Rispayeni, 2005). Keracunan histamin ini biasanya terjadi setelah mengkonsumsi ikan skombroid atau produk perikanan yang mengandung kadar histamin yang cukup tinggi seperti tuna, *mackerel*, dan bonito, oleh karena itu dikenal sebagai *scombroid poisoning* (keracunan skombroid) (Jay, 1996; Sophia, 2007). Meskipun demikian, banyak ikan-ikan *non scombroid* yang juga dapat menyebabkan keracunan histamin, seperti mahi-mahi (Niven *et al.*, 1981). Jenis-jenis ikan ini mengandung histidin bebas dalam jumlah besar pada jaringan dagingnya, yang pada kondisi tertentu dapat diubah menjadi histamin oleh enzim L-histidin dekarboksilase yang dihasilkan oleh bakteri (Sally *et al.*, 1980).

^{*)} Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, DKP

Bakteri yang memiliki enzim histidin dekarboksilase atau biasa disebut bakteri penghasil histamin, sebagian besar termasuk ke dalam famili *Enterobacteriaceae*. Jenis bakteri tersebut antara lain: *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes*, *Vibrio alginolyticus*, dan *Proteus* sp. Hampir semua strain *M. morganii* mampu menghasilkan histamin hingga mencapai 400 mg% (Jay, 1996; Indriati *et al.*, 2006). *M. morganii*, *Proteus* sp., dan *Klebsiella* sp. merupakan bakteri penghasil histamin utama dan sering ditemukan pada kasus-kasus keracunan histamin setelah mengkonsumsi ikan tuna (Wei *et al.*, 1990 dalam Rispayeni, 2005), sementara *H. alvei* dan *Proteus* sp. adalah penghasil histamin lemah (Jay, 1996). Niven *et al.*, 1981 melaporkan bahwa bakteri penghasil histamin yang paling banyak terdapat pada tuna segar, mahi-mahi, dan mackerel adalah *M. morganii*, diikuti oleh *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus* sp., *Edwardsiella* sp., dan *Vibrio* spp. Pada kasus keracunan skombroid yang berkaitan dengan konsumsi tuna *sashimi*, telah ditemukan adanya bakteri *K. pneumoniae*, dengan kandungan histamin sebesar 442 mg% (Jay, 1996). Biji picung segar secara kimiawi mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan polifenol (Anon., 2008). Aminah (2008) melaporkan bahwa ekstrak dan serbuk biji picung melalui uji fitokimia terbukti mengandung senyawa minyak atsiri, asam lemak, sterol, flavonoid, tanin, gula pereduksi, saponin, emodol, dan poliuronida. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa komponen biji picung yang mempunyai peranan dalam pengawetan ikan adalah asam sianida serta asam khaulmograt dan asam hidnokarpat (Subariah *et al.*, 1971 dalam Indriyati, 1987). Senyawa lain yang diduga bersifat sebagai antibakteri pada biji picung adalah tanin (Ismaini, 2007). Tanin merupakan senyawa golongan fenol polimer yang mampu mempresipitasi gelatin dari larutannya. Tanin bersifat toksik terhadap jamur, khamir, dan bakteri. Tanin dilaporkan bersifat bakteriostatik atau bakterisida terhadap *Staphylococcus aureus* (Cowan, 1999; Akiyama *et al.*, 2001). Selain itu pada minyak biji picung terfermentasi terdapat senyawa asam lemak yakni asam oleat, linoleat, dan asam palmitat (Widyasari, 2005).

Masih terbatasnya informasi ilmiah mengenai kemampuan ekstrak bahan aktif biji picung sebagai penghambat bakteri penghasil histamin, menjadi dasar dilakukannya penelitian mengenai uji daya hambat ekstrak bahan aktif biji picung ini terhadap bakteri penghasil histamin.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Penelitian ini menggunakan biji picung (*Pangium edule* Reinw.) segar dan terfermentasi. Biji picung terfermentasi (kluwek) adalah biji picung yang telah mengalami proses fermentasi secara alami. Biji picung segar maupun terfermentasi diperoleh dari lokasi yang sama, yaitu dari desa Pabuaran, Cileungsi, Bogor. Bahan kimia yang digunakan berupa pelarut etanol 50%, n-heksana, dapar fosfat pH 7, dan NaCl 0,9%. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri penghasil histamin yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi (BBRP2B), Departemen Kelautan dan Perikanan, Jakarta yang diisolasi dari ikan peda oleh Indriati *et al.* (2006). Jenis-jenis bakteri tersebut adalah *Enterobacter* sp., *Morganella morganii*, *Raoultella terigena*, *Microbacterium testaceum*, *Staphylococcus* sp., *Enterobacter* sp., dan *Micrococcus diversus*. Kloramfenikol (Indofarma) digunakan sebagai antibiotik pembanding dengan konsentrasi 10 mg/mL. *Nutrient Agar* (NA) (Difco) digunakan sebagai media pertumbuhan dan pemeliharaan bakteri, sedangkan *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Difco) digunakan sebagai medium uji daya hambat bakteri.

Metode

Ekstraksi komponen bioaktif

Ekstraksi dimulai dengan pengumpulan daging biji picung untuk dikeringbekukan dengan *freeze dryer* dan digiling halus. Selanjutnya 200 g serbuk biji picung segar dan biji picung terfermentasi masing-masing dilarutkan dalam 1.000 mL akuades, dan dimaserasi selama 3 x 24 jam. Ekstrak kasar yang diperoleh disaring dengan kertas *Whatman* no. 42 dan dipekatkan dengan evaporator pada suhu kamar (25°C). Ampas dari ekstrak akuades dilarutkan dalam 1.000 mL etanol 50% dan dimaserasi kembali dengan cara yang sama sehingga diperoleh ekstrak etanol 50%. Selanjutnya ampas dari ekstraksi etanol 50% dimaserasi kembali menggunakan 1.000 mL n-heksana sehingga diperoleh ekstrak n-heksana. Ketiga macam ekstrak yang diperoleh, dimasukkan ke dalam botol tertutup dan disimpan dalam *freezer* pada suhu -5°C sampai saat akan digunakan (Darusman *et al.*, 1994; Harborne, 1998).

Pembuatan larutan stok dan larutan uji

Larutan stok dibuat dengan cara penimbangan ekstrak akuades, etanol 50%, dan n-heksana masing-masing sebanyak 800 mg dan dilarutkan dengan pelarut masing-masing kemudian ditambah dengan

dapar fosfat pH 7 hingga volume 10 mL. Larutan stok yang memiliki konsentrasi 80 mg/mL tersebut, selanjutnya diencerkan secara serial hingga mencapai konsentrasi 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; dan 80 mg/mL (Anon., 1995).

Pengujian daya hambat bakteri

Pengujian antibakteri dilakukan untuk menentukan kemampuan membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup (Wangidjaja, 2004). Bakteri uji untuk pengujian daya hambat, dipersiapkan dengan cara ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* selama 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri yang telah tumbuh pada media NA kemudian diambil satu ose untuk ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* kemudian diinkubasikan pada penangas air goyang dengan kecepatan 160 rpm, 24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi bakteri yang digunakan adalah 0,5 Mc Farland (= $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Henry, 1982 dalam Darusman *et al.*, 1994).

Pengujian daya hambat bakteri secara *invitro* dilakukan dengan metode difusi agar. Cawan petri dibagi menjadi 6 bagian, dan masing-masing bagian diberi kode. Penanaman kultur bakteri uji dilakukan secara aseptis sebanyak 20 µL ke dalam 15 mL media MHA dalam cawan petri, kemudian dibiarkan selama 10 menit sampai media memadat. *Paperdisk* diletakkan pada permukaan agar di setiap bagian petri

yang telah diberi kode dan ditetesi dengan 20 µL ekstrak picung sesuai dengan kode perlakuan. Kemudian cawan petri tersebut diinkubasikan dalam posisi terbalik pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Anon., 2007)

Penandaan zona hambatan

Aktivitas daya hambat bakteri dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan di sekitar *paperdisk*. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm dan dijadikan ukuran kuantitatif untuk ukuran zona hambat. Efektifitas dari bahan aktif, ditentukan oleh perbandingan diameter zona hambat dengan nilai standar (Anon., 2007). Aktivitas tersebut dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu : aktivitas lemah (<5mm), sedang (5–10 mm), kuat (>10–20 mm), sangat kuat (>20–30 mm) (Morales *et al.*, 2003).

HASIL DAN BAHASAN

Aktivitas Daya Hambat Ekstrak N-heksana, Akuades dan Etanol 50% pada Biji Picung Terfermentasi

Aktivitas daya hambat ekstrak n-heksana, akuades, dan etanol 50% dari biji picung terfermentasi dapat dilihat pada Tabel 1, 2, dan 3 berikut.

Tabel 1. Diameter rata-rata daerah hambat (mm) dari ekstrak n-heksana biji picung terfermentasi
 Table 1. The average diameter (mm) of inhibition zone of fermented *Pangium edule* n-hexane extracts

No	Jenis bakteri/Kind of bacteria	Konsentrasi ekstrak/Extract concentration (mg/mL)									
		10	20	30	40	50	60	70	80	Klm	LP
1	<i>M. morgani</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.67	nd
2	<i>M. diversus</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	13.67	nd
3	<i>M. testaceum</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.30	nd
4	<i>R. terigena</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.33	nd
5	<i>Enterobacter</i> sp.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.33	nd
6	<i>Staphylococcus</i> sp.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	17.00	nd

Keterangan/Note: nd = tidak terdeteksi, Klm = kloramfenikol, LP = larutan pengekstrak (kontrol negatif)/
 nd = not detected, Klm = chloramphenicol, LP = solvent (negative control)

Tabel 2. Diameter rata-rata daerah hambat (mm) dari ekstrak akuades biji picung terfermentasi
 Table 2. The average diameter (mm) of inhibition zone of fermented *Pangium edule* aquadest extracts

No	Jenis bakteri/Kind of bacteria	Konsentrasi ekstrak/Extract concentration (mg/mL)									
		10	20	30	40	50	60	70	80	Klm	LP
1	<i>M. morgani</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.67	nd
2	<i>M. diversus</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	13.67	nd
3	<i>M. testaceum</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.30	nd
4	<i>R. terigena</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.33	nd
5	<i>Enterobacter</i> sp.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.33	nd
6	<i>Staphylococcus</i> sp.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	17.00	nd

Keterangan/Note: nd = tidak terdeteksi, Klm = kloramfenikol, LP = larutan pengekstrak (kontrol negatif)/
 nd = not detected, Klm = chloramphenicol, LP = solvent (negative control)

Tabel 3. Diameter rata-rata daerah hambat (mm) dari ekstrak etanol 50% biji picung terfermentasi
 Table 3. The average diameter (mm) of inhibition zone of fermented *Pangium edule* 50% ethanol extracts

No	Jenis bakteri/Kind of bacteria	Konsentrasi ekstrak/Extract concentration (mg/mL)									
		10	20	30	40	50	60	70	80	Klm	LP
1	<i>M. morgani</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.67	nd
2	<i>M. diversus</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	13.67	nd
3	<i>M. testaceum</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.30	nd
4	<i>R. terigena</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.33	nd
5	<i>Enterobacter</i> sp.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.33	nd
6	<i>Staphylococcus</i> sp.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	17.00	nd

Keterangan/Note: nd = tidak terdeteksi, Klm = kloramfenikol, LP = larutan pengekstrak (kontrol negatif)/
 nd = not detected, Klm = chloramphenicol, LP = solvent (negative control)

Dari Tabel 1, 2, dan 3 dapat dilihat bahwa ekstrak n-heksana, akuades, dan etanol 50% dari biji picung terfermentasi ternyata tidak memberikan efek penghambatan secara signifikan terhadap semua bakteri pada semua tingkat konsentrasi. Hal ini diduga karena senyawa yang dihasilkan bukan merupakan senyawa antibakteri, dan enzim *glukosidase* yang berperan dalam pelepasan asam sianida telah mengalami kerusakan akibat pemanasan sebelum proses fermentasi (Muchtadi, 1998 dalam Ismaini, 2007). Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Ismaini (2007) bahwa ekstrak akuades, etanol 50%, dan n-heksana dari biji picung terfermentasi tidak menunjukkan daya hambat terhadap bakteri pembusuk yaitu *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Alcaligenes eutrophus*, *Enterobacter aerogenes*, *Flavobacterium gleum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhimurium*, dan *Serratia marcescens*. Oleh karena itu, maka pembahasan mengenai aktivitas daya hambat selanjutnya dibatasi pada ekstrak biji picung segar.

Aktivitas Daya Hambat Ekstrak N-heksana pada Biji Picung Segar

Dari Tabel 4, dapat dilihat bahwa pada ekstrak n-heksana biji picung dalam bentuk segar tidak menghasilkan zona bening terhadap semua bakteri

uji. Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksana ternyata tidak memberikan efek penghambatan terhadap semua bakteri. Diduga bahwa meskipun pada komponen fitokimia ekstrak n-heksana biji picung segar terdapat komponen steroid, triterpenoid, alkaloid, dan glikosida, namun kontak antara senyawa fitokimia tersebut terhalang oleh adanya minyak dan lemak dalam ekstrak n-heksana. Minyak dan lemak lainnya yang berukuran lebih besar, mengganggu proses difusi dan melindungi bakteri dari senyawa antibakteri, sehingga ekstrak n-heksana tidak cukup untuk berdifusi dan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Naufalin, 2005).

Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Akuades pada Biji Picung Segar

Uji daya hambat bakteri dengan media *Mueller Hinton Agar* pada ekstrak akuades biji picung segar dengan konsentrasi 40–80 mg/mL menghasilkan zona bening pada bakteri-bakteri uji *M. morgani*, *M. diversus*, *M. testaceum*, *R. terigena*, *Enterobacter* sp., dan *Staphylococcus* sp. seperti terlihat pada Tabel 5.

Dari Tabel 5, terlihat bahwa ekstrak akuades biji picung segar memiliki daya hambat terhadap *M. morgani* dan *M. diversus* pada konsentrasi

Tabel 4. Diameter rata-rata daerah hambat (mm) ekstrak n-heksana biji picung segar
 Table 4. The average diameter (mm) of inhibition zone of fresh *Pangium edule* n-hexane extract

No	Jenis bakteri/Kind of bacteria	Konsentrasi ekstrak/Extract concentration (mg/mL)									
		10	20	30	40	50	60	70	80	Klm	LP
1	<i>M. morgani</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	8.67	nd
2	<i>M. diversus</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	10.00	nd
3	<i>M. testaceum</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	9.00	nd
4	<i>R. terigena</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11.00	nd
5	<i>Enterobacter</i> sp.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	8.67	nd
6	<i>Staphylococcus</i> sp.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	12.33	nd

Keterangan/Note: nd = tidak terdeteksi, Klm = kloramfenikol, LP = larutan pengekstrak (kontrol negatif)/
 nd = not detected, Klm = chloramphenicol, LP = solvent (negative control)

Tabel 5. Diameter rata-rata daerah hambat (mm) ekstrak akuades biji picung segar
 Table 5. The average diameter (mm) of inhibition zone of fresh *Pangium edule* aquadest extract

No	Jenis bakteri/ Kind of bacteria	Konsentrasi ekstrak/Extract concentration (mg/mL)									
		10	20	30	40	50	60	70	80	Klm	LP
1	<i>M. morganii</i>	nd	nd	nd	nd	1.00	0.83	2.33	3.33	11.33	nd
2	<i>M. diversus</i>	nd	nd	nd	nd	0.67	1.00	2.00	1.33	6.67	nd
3	<i>M. testaceum</i>	nd	nd	nd	1.33	0.67	0.67	0.83	3.00	10.67	nd
4	<i>R. terigena</i>	nd	nd	nd	0.50	0.75	1.00	1.50	2.50	10.00	nd
5	<i>Enterobacter</i> sp.	nd	nd	nd	1.00	0.67	1.17	1.00	2.00	8.33	nd
6	<i>Staphylococcus</i> sp.	nd	nd	nd	2.33	4.67	5.33	9.33	12.00	19.67	nd

Keterangan/Note: nd = tidak terdeteksi, Klm = kloramfenikol, LP = larutan pengekstrak (kontrol negatif)/
 nd = not detected, Klm = chloramphenicol, LP = solvent (negative control)

50 mg/mL atau lebih, sedangkan *M. testaceum*, *R. terigena*, *Enterobacter* sp., dan *Staphylococcus* sp. mulai dihambat pada konsentrasi 40 mg/mL. Zona bening tertinggi pada *M. morganii* dihasilkan oleh ekstrak akuades biji picung segar pada konsentrasi 80 mg/mL (3,33 mm), *M. diversus* pada konsentrasi 70 mg/mL (13 mm), *M. testaceum* pada konsentrasi 80 mg/mL (3 mm), *R. terigena* pada konsentrasi 80 mg/mL (2,5 mm), *Enterobacter* sp. pada konsentrasi 80 mg/mL (2 mm), dan *Staphylococcus* sp. pada konsentrasi 80 mg/mL (12 mm). Dapat dikatakan bahwa zona bening tertinggi untuk semua bakteri uji dihasilkan oleh ekstrak akuades dengan konsentrasi 80 mg/mL, meskipun pada konsentrasi ini, zona bening ekstrak akuades biji picung segar yang terbentuk masih lebih kecil dari zona bening kloramfenikol. Ekstrak akuades biji picung segar dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, diduga karena mengandung senyawa antibakteri seperti : senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, dan senyawa anionik. Ismaini (2007) melaporkan biji picung segar yang diekstraksi dengan akuades mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme penghambatan flavonoid terhadap pertumbuhan bakteri diduga karena kemampuan senyawa tersebut membentuk kompleks dengan protein ekstraselular,

menginaktivasi enzim, dan merusak membran sel. Pada umumnya senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Cowan, 1999).

Berdasarkan diameter zona hambat, maka dapat diketahui bahwa aktivitas daya hambat ekstrak akuades biji picung segar terhadap *M. morganii*, *M. diversus*, *M. testaceum*, *R. terigena*, dan *Enterobacter* sp. termasuk aktivitas lemah, sedangkan terhadap *Staphylococcus* sp. termasuk kategori aktivitas lemah pada konsentrasi 40–50 mg/mL (2,33–4,67 mm) sampai kuat pada konsentrasi 80 mg/mL.

Ekstrak akuades biji picung segar mempunyai kemampuan penghambatan paling tinggi pada *Staphylococcus* sp., kemudian berturut-turut diikuti oleh *M. morganii*, *M. testaceum*, *R. terigena*, dan *Enterobacter* sp. Sedangkan bakteri uji yang paling sulit dihambat adalah *M. diversus*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang paling sensitif terhadap ekstrak biji picung segar adalah *Staphylococcus* sp.

Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol 50% pada Biji Picung Segar

Pada Tabel 6 terlihat bahwa ekstrak etanol 50% biji picung segar tidak dapat menghambat pertumbuhan *M. morganii* dan *Enterobacter* sp. pada

Tabel 6. Diameter rata-rata daerah hambat (mm) ekstrak etanol 50% biji picung segar
 Table 6. The average diameter (mm) of inhibited zone of fresh *Pangium edule* ethanol extract

No	Jenis bakteri/ Kind of bacteria	Konsentrasi ekstrak/Extract concentration (mg/mL)									
		10	20	30	40	50	60	70	80	Klm	LP
1	<i>M. morganii</i>	nd	nd	0.33	14.00	9.33	14.67	12.67	18.00	19.33	nd
2	<i>M. diversus</i>	0.33	0.33	1.33	11.33	7.00	12.33	7.00	13.00	17.00	nd
3	<i>M. testaceum</i>	0.67	0.67	0.67	13.00	9.00	17.00	11.00	16.33	22.33	nd
4	<i>R. terigena</i>	0.33	0.33	0.67	12.00	6.67	14.00	12.00	15.67	20.33	nd
5	<i>Enterobacter</i> sp.	nd	nd	nd	18.00	7.33	13.33	9.00	15.00	18.00	nd
6	<i>Staphylococcus</i> sp.	0.33	0.67	1.00	12.00	6.33	13.00	10.67	16.67	20.00	nd

Keterangan/Note: nd = tidak terdeteksi, Klm = kloramfenikol, LP = larutan pengekstrak (kontrol negatif)/
 nd = not detected, Klm = chloramphenicol, LP = solvent (negative control)

konsentrasi 10–20 µg/mL diduga karena ekstrak tersebut konsentrasinya masih rendah dan belum bersifat toksik terhadap sel bakteri, sehingga tidak merusak membran sel dan mengganggu proses biosintesis peptidoglikan (Cowan, 1999).

Pada ekstrak etanol biji picung segar, diameter zona bening yang terbentuk pada konsentrasi 80 mg/mL hampir mendekati diameter zona bening kloramfenikol terhadap bakteri uji *M. morganii*, *M. diversus*, dan *R. terigena*. Penghambatan ekstrak etanol 50% terhadap keenam bakteri uji sebesar 0,33–18 mm pada konsentrasi 30–80 µg/mL.

Mengacu pada Tabel 6 dapat dikatakan bahwa konsentrasi ekstrak etanol 50% yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *M. morganii*, *M. diversus*, *R. terigena*, dan *Staphylococcus* sp. adalah konsentrasi 80 mg/mL. *M. testaceum* dihambat pada konsentrasi 60 mg/mL, sedangkan *Enterobacter* sp. dihambat pada konsentrasi 40 mg/mL.

Ekstrak etanol 50% biji picung segar memiliki daya hambat terhadap *M. morganii* pada konsentrasi 30 mg/mL atau lebih, *Enterobacter* sp. pada konsentrasi 40 mg/mL atau lebih, sedangkan *M. diversus*, *M. testaceum*, *R. terigena*, dan *Staphylococcus* sp. mulai dihambat pada konsentrasi 10 mg/mL. Berdasarkan diameter zona hambat, maka dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol 50% biji picung segar terhadap *M. morganii*, *M. diversus*, *M. testaceum*, *R. terigena*, dan *Staphylococcus* sp. termasuk aktivitas lemah sampai kuat, sedangkan aktivitasnya terhadap *Enterobacter* sp. termasuk aktivitas sedang sampai kuat.

Ekstrak etanol 50% biji picung segar memiliki kemampuan penghambatan paling tinggi terhadap *M. morganii* dan *Enterobacter* sp., kemudian berturut-turut diikuti oleh *M. testaceum*, *Staphylococcus* sp., dan *R. terigena*. Sementara itu bakteri yang paling sulit dihambat adalah *M. diversus*. Dengan demikian dapat diketahui bahwa bakteri yang paling sensitif terhadap ekstrak etanol 50% biji picung segar adalah *M. morganii* dan yang paling resisten adalah *M. diversus*.

Ekstrak etanol memberikan daya hambat lebih tinggi daripada ekstrak akuades. Diduga ekstrak etanol 50% lebih memberikan polaritas optimum daripada ekstrak akuades. Menurut Kanazawa *et al.* (1995) dalam Naufalin (2005) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba, tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel

hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik, sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik-hidrofobik untuk mencapai aktivitas yang optimal (Branen & Davidson, 1993 dalam Naufalin *et al.*, 2005). Selain itu, ekstrak etanol 50%, jika dibandingkan dengan ekstrak akuades, menunjukkan aktivitas yang lebih kuat. Hal ini diduga dengan pelarut etanol komponen senyawa aktif pada biji picung segar akan lebih banyak terekstrak. Andarwulan (1999) menyatakan pelarut etanol 50% merupakan pelarut yang baik untuk menarik senyawa golongan polifenol (tanin), fenol, glikosida, dan flavonoid dari tumbuhan.

KESIMPULAN

1. Pada biji picung terfermentasi, baik ekstrak akuades, etanol 50%, maupun n-heksana tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri penghasil histamin.
2. Pada biji picung segar, ekstrak n-heksana tidak memberikan penghambatan secara signifikan terhadap semua bakteri uji.
3. Ekstrak akuades biji picung segar memiliki daya hambat terhadap *M. morganii* dan *M. diversus* pada konsentrasi 50 mg/mL atau lebih, sedangkan *M. testaceum*, *R. terigena*, *Enterobacter* sp., dan *Staphylococcus* sp. mulai dihambat pada konsentrasi 40 mg/mL. Berdasarkan aktivitas daya hambatnya, ekstrak akuades biji picung segar memberikan aktivitas lemah terhadap *M. morganii*, *M. diversus*, *M. testaceum*, *R. terigena*, dan *Enterobacter* sp., serta memiliki aktivitas lemah sampai kuat terhadap *Staphylococcus* sp.
4. Ekstrak etanol 50% biji picung segar pada konsentrasi 10–20 mg/mL tidak memiliki daya hambat, namun pada konsentrasi 30 mg/mL atau lebih memiliki daya hambat terhadap *M. morganii*, *M. diversus*, *M. testaceum*, *R. terigena*, dan *Staphylococcus* sp. kecuali pada *Enterobacter* sp. Berdasarkan aktivitas daya hambatnya, ekstrak etanol 50% biji picung segar memiliki aktivitas lemah sampai kuat terhadap *M. morganii*, *M. diversus*, *M. testaceum*, *R. terigena*, dan *Staphylococcus* sp., sedangkan aktivitasnya terhadap *Enterobacter* sp. termasuk kategori sedang sampai kuat. Zona bening yang terbentuk pada *Enterobacter* sp. pada konsentrasi 40 mg/mL hampir mendekati diameter zona bening kloramfenikol.
5. Secara umum ekstrak etanol 50% lebih baik daripada ekstrak akuades karena memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri pembentuk histamin yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminah. 2008. Potensi *Pangium edule* Reinw (picung) sebagai agen pengendali hayati, Tahap II. <http://www.ekologi.litbang.depkes.go.id/data/abstrak/nunik2.pdf>. Diakses tanggal 3 April 2008. 1 pp.
- Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Ditjen POM, Departemen Kesehatan R.I., Jakarta. 1290 pp.
- Anonim. 2008. KePAYANG. http://bebas.vlsm.org/v12/artikel/ttg_tanaman_obat/depkes/buku1/1-217.pdf. Diakses tanggal 3 April 2008. 1 pp.
- Anonymous. 2007. Chemical methods of cultural classroom activity. Access excellence classic collection. http://www.accessexcellence.org/AE/AEC/CC/chance_activity.html. Diakses tanggal 3 Desember 2007. 1 pp.
- Akiyama, H., Fuji, K., Yamasaki, O., Oono, T., and Iwatsuki, K. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J. of Antimicrobial Chemotherapy* Lawrence. 48: 487–491.
- Andarwulan, N., Fardiaz, S., Waimena, G.A., and Shetty, K. 1999. Antioxidant activity associate with lipid and phenolic mobilization during seed germination of *Pangium edule* Reinw. *J. Agric. Food Chemistry*. 47: 3158–3163.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564–582.
- Darusman, L.K., Sajuthi, D., Sutriah, K., dan Pamungkas, D. 1994. Ekstraksi komponen bioaktif sebagai bahan obat dari kerang-kerangan, bunga karang dan ganggang di Perairan P. Pari, Kepulauan Seribu tahap II : Fraksinasi dan Bioassay. *Makalah Seminar Nasional Hasil-hasil Penelitian*. DIKTI, Depdikbud. 29 pp.
- Harborne, J.B. 1998. *Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plants Analysis*. Third edition. Chapman & Hall, London. 302 pp.
- Indriyati. 1987. *Mempelajari Aktivitas Antibakterial Biji Picung (Pangium edule Reinw.) Terhadap Beberapa Bakteri Pembusuk Ikan Secara Invitro*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 61 pp.
- Indriati, N., Rispayeni, dan Heruwati, E.S. 2006. Studi bakteri pembentuk histamin pada ikan kembung peda selama proses pengolahan. *J. Penel. Perik. Indonesia*. 1(2): 117–123.
- Ismaini, L. 2007. *Studi Aktivitas dan Analisis Kimia Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Biji Picung (Pangium edule Reinw.)*. Tesis. Program Pascasarjana Fakultas MIPA, Universitas Indonesia. 87 pp.
- Jay, W.C. 1996. *Modern Food Microbiology*. 4th.ed. International Thompson Publishing. 661 pp.
- Morales, G., Sierra, P., Mancilla, Paredes, A., Loyola, L. A., Gallardo, O., and Borquez, J. 2003. Secondary metabolites from four medicinal plants from Northern Chile, antimicrobial activity, and biotoxicity against *Artemia salina*. *J. Chile Chem*. 48(2).
- Nahla, Korashy, T., and Farag, H.S.M. 2005. Histamine and histamine producing bacteria in some local and imported fish and their public health significance. *Res J. Agr. & Bio. Sci*. 1(4): 329–336.
- Naufalin, R. 2005. *Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Bunga Kecombrang (Nicolaiia speciosa Horan) Terhadap Berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Naufalin, R., Jenie, B.S.L., Kusnandar, F., Sudarwanto, M., dan Rukmini, H. 2005. Aktivitas antibakteri ekstrak bunga kecombrang terhadap bakteri patogen dan perusak pangan. *Jurnal. Teknol. dan Industri Pangan*. 16(2): 119–125.
- Niven, C.F., Jeffrrey, M.B., and Corlett, D.A. 1981. Differential plating medium for quantitative detection of histamine producing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. p. 321–322.
- Rispayeni. 2005. *Bakteri Pembentuk Histamin pada Peda Kembung Perempuan (Rastrelliger neglectus) Selama Proses Pengolahan*. Skripsi Sarjana Sains. Fakultas Biologi, Universitas Nasional, Jakarta. 55 pp.
- Sally, H.A., Price, R.S., and Brown, W. 1980. Histamine formation by bacteria isolated from skipjack tuna. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 46: 991–995.
- Sophia, R.A. 2007. *Seleksi dan Pengujian Aktivitas Enzim L-Histidine Decarboxylase dari Bakteri Pembentuk Histamin*. Tesis. Fakultas MIPA, Universitas Indonesia. 71 pp.
- Wangidjaja, R.G. 2004. *Ekstrak Bunga dan Getah Semboja Sebagai Antibakteri dan Bahan Aktif untuk Pergeseran Gigi Seri Kelinci*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 110 pp.
- Widyasari, R.A.H.E. 2005. *Teknologi Pengawetan Ikan Kembung (Rastrelliger brachysoma) Segar Dengan Menggunakan Bahan Bioaktif Alami Biji Picung (Pangium edule Reinw.)*. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Witiak, D.T., Jeffrey, M.B., and Corlett, D.A. 1981. Antiallergenic agents. In: Foye, W. O. (ed). *Principles of Medicinal Chemistry*. LEA & Febiger, Philadelphia. 474 pp.

