

## MEKANISME ANTIBAKTERI METABOLIT *Lb. plantarum* kik dan MONOASILGLISEROL MINYAK KELAPA TERHADAP BAKTERI PATOGEN PANGAN

[Mechanism at Antibacterial Activity of *Lb. plantarum* kik Metabolites and Monoacylglycerol Coconut Oil upon Pathogenic Bacteria]

Asriani <sup>1)</sup>, Betty Sri Laksmi <sup>2)</sup>, Sedarnawati Yasni <sup>2)</sup>, dan Idwan Sudirman<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Staf Pengajar Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Kampus Kaktus Tondo, Palu

<sup>2)</sup> Staf Pengajar Jurusan TPG, FATETA-IPB, Kampus IPB Darmaga Bogor

<sup>3)</sup> Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Hewan-IPB, Kampus IPB Darmaga Bogor

Diterima 23 Juni 2007/ Disetujui 18 November 2007

### ABSTRACT

Antibacterial mechanism of mixture between metabolites *Lb. plantarum* kik and monoacylglycerol coconut oil was found through analysis of the MIC levels. The level of 1 and 2 MIC can increase the leakages of the gram positif bacterial cell (*L. monocytogenes* and *B. cereus*) and that of the gram negative bacteria (*S. typhimurium*). The leakages of cell was measured by spectrofotometer and represented increasing of the absorbance of the protein nucleic acid. The absorbance of metal ion was evaluated using a AASS (measured by Atomic Absorption Spectrophotometer) and it indicated that the absorbance increased of 40.2% and 22.1% for  $Ca^{2+}$  and  $K^+$  respectively. Observation of cell damage on *L. monocytogenes* and *S. typhimurium* using SEM (scanning Electron Microscopy) resulted in morphological damage on both MIC 1 and 2 in which MIC 2 was severely damage.

**Key word :** antibacterial mechanism, monoacylglycerol coconut oil, minimum inhibitory concentration.

### PENDAHULUAN

Inaktivasi bakteri merupakan hasil interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bagian tertentu dari sel bakteri, interaksi senyawa antibakteri tersebut dapat menyebabkan sejumlah perubahan atau kerusakan sel bakteri yang akhirnya dapat mempengaruhi fungsi metabolisme sel dan pada tingkat kerusakan yang parah dapat menimbulkan kematian pada sel bakteri. Kerusakan ini dapat menyebabkan rusaknya permeabilitas membran dan menimbulkan kebocoran pada komponen intraseluler seperti natrium glutamat, natrium hidrogen fosfat, nukleotida, kalium dan fosfat organik (Nychas dan Tassou 2000).

Kebocoran sel dapat diamati dengan mengukur derajat kerusakan dinding dan membran sel. Derajat kerusakan dinding sel diukur dari jumlah ion  $Ca^{2+}$  yang terdapat pada dinding sel sedang derajat kerusakan membran diukur dari jumlah ion  $K^+$  yang terdapat dalam plasma sel maupun dari bahan-bahan yang dilepaskan oleh sel yang dapat diserap pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm (Bunduki et al., 1995).

Peningkatan nilai absorbansi pada sel yang diukur mengindikasikan jumlah peningkatan jumlah isi sel yang dikeluarkan oleh sel. Menurut Park et al., (2003) komponen isi sel yang bocor keluar sel dapat diukur pada panjang gelombang 260 nm adalah DNA diantaranya purin, pirimidin, ribonukleotida sedangkan pada panjang gelombang 280 nm dapat mengukur tirosin

dan triptopan. Kerusakan dinding sel dengan interaksi senyawa antibakteri juga dapat diamati dengan menggunakan SEM (Burth dan Reinders 2003).

Kerusakan dinding sel oleh senyawa antibakteri telah diamati oleh beberapa peneliti sebelumnya dengan menggunakan SEM diantaranya Levlinesia (2004) dengan ekstrak biji atung, Naufalin (2005) pada ekstrak bunga kecombrang maupun Parhusip (2006) pada ekstrak buah andaliman terhadap berbagai bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Campuran ekstra seluler metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa memberikan interaksi positif sebagai antibakteri (Asriani et al., 2005) sehingga mekanismenya perlu dipelajari, hal ini disebabkan karena adanya berbagai komponen di dalam metabolit *Lb. plantarum* kik seperti asam laktat, asam asetat dan asam sitrat maupun asam lemak dalam monoasilgliserol berupa asam kaprilat, asam kaprat, laurat dan miristat. Semua komponen tersebut telah terbukti sebagai senyawa antibakteri, berdasarkan hasil penelitian dari Wang et al., (1993), Mappiratu et al., (2002), Jenie et al., (2001), Nair et al., (2005) maupun Smith et al., (2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme kerja antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dengan monoasilgliserol minyak kelapa terhadap bakteri patogen (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella Typhimurium*) dengan spektrofotometer (kebocoran protein dan asam nukleat), Atomic

Absorption Spectrofotometer (kebocoran ion-ion logam) dan Scanning Elektron Microscope (perubahan morfologi dan struktur sel).

## METODOLOGI

### Bahan dan alat

Isolat *Lb. plantarum* kik diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian IPB, sedangkan monoasilgliserol minyak kelapa diperoleh dari Laboratorium Agroindustri Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako Palu.

Bakteri uji yang digunakan adalah *Listeria monocytogenes* (FNCC 0156), *Bacillus aureus* (FNCC 057) dan *Salmonella* Typhimurium (FNCC 0734) yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Semua media mikrobiologi diperoleh dari Oxoid Ltd, sedangkan peralatan berupa inkubator, sentrifus, oven, dan alat-alat gelas diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Pangan IPB. Pengamatan dengan SEM (*Scanning electron microscopy*) dilakukan di Laboratorium NAMRU dan Laboratorium Fisika Biomaterial Universitas Indonesia.

### Metode

#### Persiapan bakteri uji

Sebanyak satu ose bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini dari stok agar miring diinokulasikan ke dalam media nutrient broth (NB) dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C kecuali untuk *Listeria monocytogenes* yang di inkubasi pada suhu 29°C kamar. Sebanyak 1 ml kultur bakteri di tambahkan ke dalam 9 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (*Bacillus cereus* dan *Salmonella typhimurium*) dan suhu 29°C kamar (*Listeria monocytogenes*). Kultur bakteri uji yang digunakan untuk menentukan kebocoran protein, asam nukleat dan perubahan morfologi sel sebesar 10<sup>6</sup> CFU/ml.

#### Persiapan kultur stok dan produksi metabolit *Lb. plantarum* kik

Isolat *Lb. plantarum* kik sebanyak satu ose dari kultur stok agar miring diinokulasikan ke dalam medium nutrient broth (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Kultur tersebut diambil 1 ml diinokulasikan ke dalam 9 ml MRS broth., diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari. Selanjutnya sebanyak 4% (v/v) kultur tersebut diinokulasikan ke dalam media steril MRS broth modifikasi (MRS broth di tambah 2% glukosa, 2% ekstrak khamir, 1% tripton) kemudian diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37 °C. Setelah inkubasi kultur disentrifus pada 10.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatan dengan massa sel. Supernatan dipisahkan dari endapan dengan menyaring menggunakan kertas saring whatman ukuran 0.22 µm, kemudian dicampur dengan monoasilgliserol minyak

kelapa dengan perbandingan 5:3 atas dasar volume/volume (v/v) hal ini didasarkan pada temuan sebelumnya dimana dengan perbandingan 5: 3 diperoleh aktivitas penghambatan terbaik.

#### Analisis kebocoran protein dan asam nukleat (Bunduki et al., 1995)

Berdasarkan penelitian sebelumnya diperoleh nilai MIC untuk *L.monocytogenes* dengan penggunaan campuran metabolit *Lb.plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa sebesar 1,2 mg/ml (b/v) untuk *L.monocytogenes* ; *B. cereus* sebesar 1,4mg/ml (b/v); dan untuk *S. Typhimurium* sebesar 2,5mg/ml (b/v).

Suspensi bakteri uji yang telah ditumbuhkan selama 24 jam dalam media nutrien broth sebanyak 10 ml diambil dan disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit. Filtrat dibuang lalu pelet dalam tabung dicuci dengan buffer fosfat pH 7,0 sebanyak 2 kali, kemudian disuspensikan di dalam 10 ml buffer fosfat pH 7,0. Selanjutnya ditambahkan campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa dengan konsentrasi 1 MIC, 2 MIC dan kontrol. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator goyang selama 24 jam, suspensi disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit, lalu disaring dengan tujuan untuk memisahkan supernatan dari pelet sel bakteri. Cairan supernatan diambil dan diukur absorbansinya dengan menggunakan Double Beam Spektrofotometer (Model U-2000 Hitachi Instruments, Inc, Westone, MA) pada panjang gelombang 280 dan 260 nm. Panjang gelombang 280 nm digunakan untuk mengukur kadar nitrogen dari protein sel, sedangkan panjang gelombang 260 nm untuk mengukur kadar nitrogen asam nukleat. Untuk membedakan adanya peningkatan absorbansi dari sel bakteri yang bocor adalah dengan membandingkan absorbansi dari sel yang diberi antibakteri dengan sel yang tidak diberi senyawa antibakteri (perlakuan kontrol).

#### Kebocoran Ion-Ion Logam ( Park, 1996 )

Analisis kebocoran ion dilakukan pada pelet bakteri yang diperoleh dari perlakuan untuk pengukuran kebocoran protein dan asam nukleat. Kebocoran ion-ion K<sup>+</sup> dan Ca<sup>2+</sup> dideteksi dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Pelet sel hasil kontak dengan metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa dicuci dengan air bebas ion steril sebanyak 3 kali. Pelet yang telah bersih ditimbang, diabukan dengan cara pengabuan basah lalu diukur dengan AAS(*Atomic Absorption Spectrophotometer*).

#### Pengamatan morfologi sel dengan SEM (*Scanning electron microscopy*) ( JEOL 1995, Noor 2001).

Analisis kerusakan morfologi sel dimaksudkan untuk mempelajari perubahan morfologi dan struktur sel dari *L. monocytogenes* dan *S. typhimurium* akibat pengaruh campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa yang meliputi pola

kerusakan morfologi dan struktur sel bakteri, serta kerusakan dinding sel dan membran sitoplasma.

Metode yang digunakan dengan menggunakan SEM, dengan cara suspensi sel bakteri uji yang telah diberi perlakuan 0 MIC, 1 MIC dan 2 MIC diinkubasi selama 24 jam pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37° C untuk *S. Typhimurium* dan suhu 29° C ruang untuk *L. monocytogenes*. Setelah itu suspensi sel disentrifusi pada 3500 rpm selama 20 menit, supernatan dibuang dan diambil peletnya untuk kemudian dicuci dengan buffer fosfat sebanyak 2 kali. Pelet selanjutnya difiksasi dengan glutaraldehida 2,5% dalam (0,1 M buffer sodium cacodilat pH 7,2), dibiarkan selama 1,5 jam, dicuci dua kali dengan buffer cacodilat 0,05 M pH 7,2 selama 20 menit untuk masing-masing. Selanjutnya difiksasi dengan osmium tetraoxide 1% dalam buffer cacodilat 0,05%, pH 7,2 selama 1 – 2 menit, lalu dicuci dengan akuabides (DDH<sub>2</sub>O) 3 kali masing-masing selama 2 menit, dikeringkan dengan etanol pada berbagai konsentrasi yang dimulai dari konsentrasi 25, 50, 75 kemudian 100% sebanyak tiga kali masing-masing selama 10 menit. Spesimen diambil dan dilewatkan pada membran 0,2 µm untuk selanjutnya direkatkan pada stub aluminium dan dilapisi dengan emas melalui proses vakum (6-7Pa) selama 20 menit.

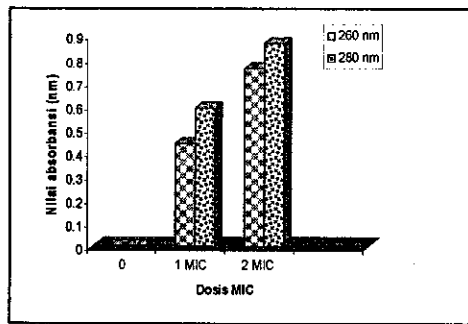
Selanjutnya sampel diamati di bawah SEM tipe JEOL 5310.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

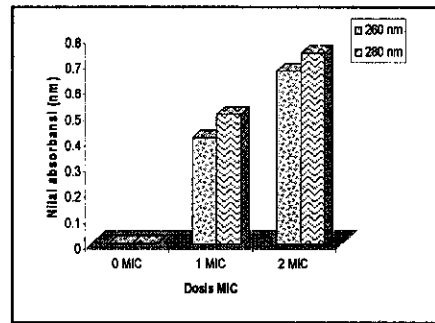
**Kebocoran protein dan asam nukleat**

Gambar 1 a – 1 c memperlihatkan kenaikan absorbansi dari supernatan sel, yang mengindikasikan terjadinya peningkatan bahan – bahan yang dapat diserap pada panjang gelombang 260 dan 280 nm yang dikeluarkan oleh sel bakteri.

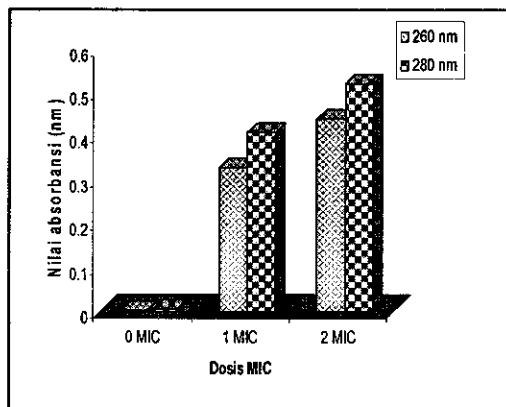
Peningkatan absorbansi yang diperlihatkan pada gambar 1a -1c memperlihatkan meningkatnya jumlah senyawa yang dilepaskan oleh sel bakteri akibat pemberian senyawa antibakteri. Senyawa ini dapat berupa RNA dan turunannya seperti nukleotida yang dapat terserap pada panjang gelombang 260 nm dan senyawa protein yang dapat diserap pada panjang gelombang 280 nm. Hal ini sejalan dengan pernyataan Lin et al., (2000) bahwa senyawa – senyawa yang dapat terdeteksi pada panjang gelombang 260 adalah RNA dan turunannya, yaitu nukleotida sedangkan pada panjang gelombang 280 nm adalah protein.



(a) *L.monocytogenes*



(b) *B. cereus*



(c) *S.typhimurium*

Gambar 1. Kebocoran protein dan asam nukleat pada beberapa sel bakteri yang diberi senyawa antibakteri metabolit *Lb. Plantarum* kiki dan MAG minyak kelapa pada berbagai dosis MIC.

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa kebocoran sel pada bakteri Gram positif seperti *L. monocytogenes* dan *B. cereus* maupun bakteri Gram negatif *S. Typhimurium* akibat pemberian senyawa antibakteri dari metabolit *Lb. plantarum* kik-dan MAG minyak kelapa, protein yang dilepaskan lebih tinggi dibandingkan dengan asam nukleat yang berarti sel bakteri mengalami kebocoran senyawa protein lebih banyak dari pada asam nukleat. Pada sel *L. monocytogenes* dan *B. cereus*, nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai absorbansi *S. Typhimurium*. Nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm akan semakin meningkat dengan semakin tinggi dosis MIC, ini menunjukkan adanya perbedaan kerusakan sel antara bakteri Gram positif (*L. monocytogenes* dan *B. cereus*) dengan bakteri Gram negatif (*S. Typhimurium*).

Kebocoran sel pada bakteri Gram positif seperti *L. monocytogenes* dan *B. cereus* maupun bakteri Gram negatif *S. Typhimurium* akibat pemberian antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan MAG minyak kelapa, menunjukkan protein yang dilepaskan lebih tinggi dibandingkan dengan asam nukleat yang berarti sel bakteri mengalami kebocoran senyawa protein lebih banyak dari pada asam nukleat.

Menurut Nychas (1995), kebocoran sel adalah fenomena umum yang disebabkan oleh beberapa senyawa antibakteri. Selanjutnya, Bunduki *et al.* (1995) menemukan adanya perubahan jumlah asam nukleat dan protein dalam medium pada *L. monocytogenes* yang mengalami kerusakan sublethal panas (56 °C, 20 menit) atau pemanasan sanitaisier klorin (100 ppm, 20 menit).

Davidson dan Branen (1994) menyatakan bahwa senyawa yang terdeteksi pada kebocoran sel *Pseudomonas spp.* yang diberi BHA (*butylated hydroxyanisole*) lebih banyak pada panjang gelombang 280 nm dibandingkan pada panjang gelombang 260 nm. Dalam penelitian ini kebocoran sel disebabkan oleh adanya interaksi antara senyawa antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik-MAG minyak kelapa dengan komponen membran luar sel bakteri terutama komponen fosfolipida yang membentuk pori pada membran sel bakteri. Jika pori membran membesar karena adanya perubahan fosfolipida, molekul yang berukuran lebih besar dapat keluar dari membran sel atau sifat semi permeabel membran mengalami perubahan. Gangguan permeabilitas membran pada sel bakteri menyebabkan terjadinya kebocoran protein dan asam nukleat.

Kebocoran sel bakteri akibat penggunaan senyawa antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan MAG minyak kelapa dapat pula diakibatkan oleh rusaknya ikatan hidrofobik komponen penyusun membran sel, seperti protein, fosfolipid serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrofilik dan hidrofobik (Kim *et al.*, 1995). Keadaan ini meningkatkan permeabilitas membran sel, sehingga memudahkan masuknya komponen antibakteri ke dalam

sel serta keluarnya substansi sel seperti protein dan asam nukleat yang menyebabkan kerusakan sel (Yuk *et al.*, 2005).

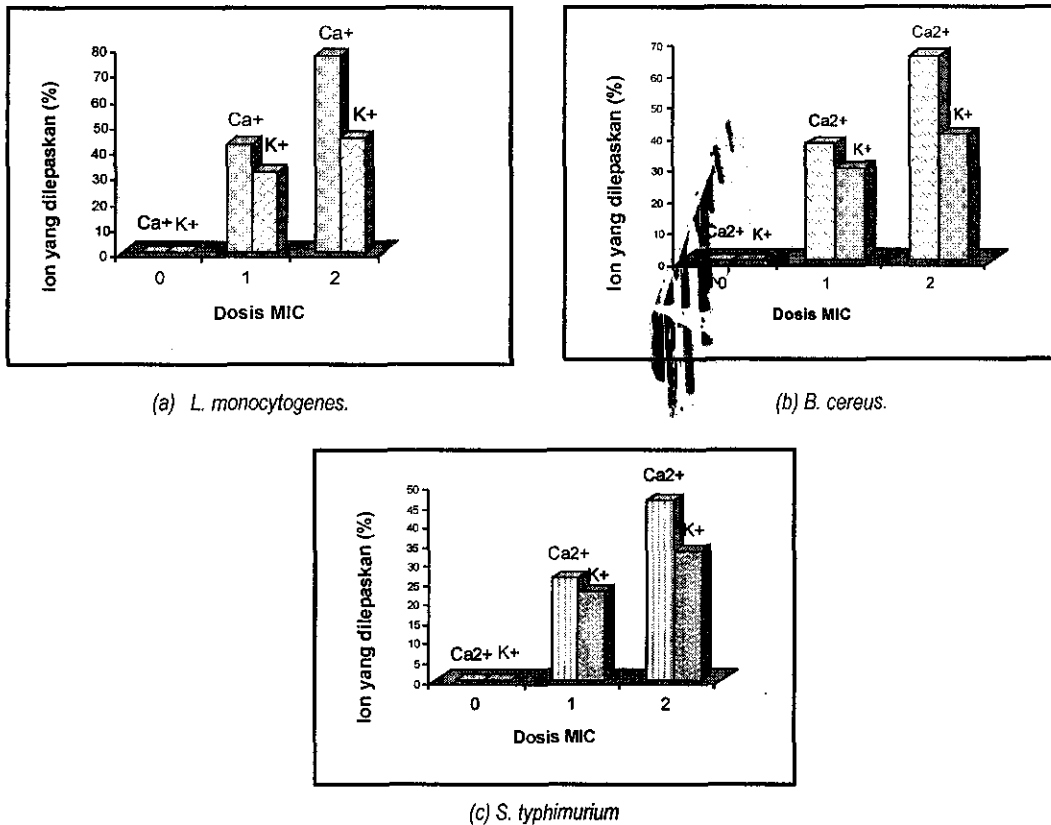
#### Kebocoran Ion-Ion Logam

Pada Gambar 2a – 2c menunjukkan bahwa penggunaan campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa 1 MIC dan 2 MIC jumlah ion  $K^+$  dan  $Ca^{2+}$  yang dilepaskan oleh sel *L. monocytogenes*, *B. cereus* maupun *S. Typhimurium* lebih besar dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa metabolit *Lb. plantarum* kik-MAG minyak kelapa menyebabkan dinding sel menjadi lisis dengan melepaskan ion  $Ca^{2+}$ , dan menyebabkan kebocoran membran sel dengan melepaskan protein, asam nukleat dan ion  $K^+$  ke lingkungan. Penelitian ini sejalan dengan temuan Heipieper *et al.* (1996) terhadap *Pseudomonas putida* P8 dengan menggunakan senyawa fenol yang telah melepaskan ion  $K^+$  secara nyata ke lingkungan luar.

Ion  $K^+$  merupakan kation utama yang terkandung dalam sitoplasma pada sel yang sedang tumbuh, sedangkan ion  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  terdapat di bagian sitosol yaitu cairan sitoplasma. Kedua jenis ion ini juga ditemukan pada dinding sel yang turut berperan dalam aktivitas enzim (Ultee 1998). Ion  $K^+$  memiliki peran dalam mengaktivasi enzim sitoplasma, menjaga tekanan turgor serta mengatur pH sitoplasma. Sementara ion  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  berfungsi menghubungkan lipopolisakarida (LPS) pada dinding sel bakteri Gram negatif (Nikaido dan Vaara, 1985). Pada bakteri Gram positif ion  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  berfungsi menghubungkan asam teikoat sebagai penyusun sel.

Menurut Friedman *et al.*, (2004) beberapa senyawa antibakteri dapat merusak integritas dari membran sel bakteri dengan cara merusak ikatan kation divalen  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  dengan lipopolisakarida pada bakteri Gram negatif sedang pada bakteri Gram positif kation-kation ini berfungsi menghubungkan asam teikoat sebagai penyusun sel.

Terlepasnya kation tersebut dari membran luar menyebabkan masuknya senyawa antibakteri ke dalam sel (Stratford 2000). Russel (1984) menyatakan bahwa bentuk kerusakan dari membran sel diperlihatkan dengan keluarnya kandungan dari bahan-bahan yang terserap pada panjang gelombang 260 nm, yaitu pentosa, atau asam-asam amino atau ion  $K^+$ . Senyawa yang terdapat dalam campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa seperti asam organik diantaranya asam laktat, asetat, sitrat, dan asam-asam lemak jenuh rantai pendek dan menengah diduga kuat penyebab dalam kebocoran sel mikroba yang ditandai dengan keluarnya berbagai komponen seperti protein, asam nukleat, maupun ion-ion logam yang berperan penting dalam metabolisme sel.



Gambar 2. Kebocoran ion logam pada beberapa sel bakteri yang diberi senyawa antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan MAG minyak kelapa pada berbagai dosis MIC.

Hal ini didasarkan pada pernyataan Stratford (2000) bahwa asam-asam organik seperti asam sitrat, asam malat, etilen diamin tetraacetid acid (EDTA) dan asam laktat maupun asam klorida (Alakomi et al., 2000) dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dengan mengkelat kation bivalen  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$ . Sementara Davidson dan Branen (1993) menyatakan bahwa salah satu mekanisme kerja antibakteri dari asam-asam lemak adalah bereaksi dengan komponen fosfolipid dari membran luar sel bakteri yang menyebabkan peningkatan permeabilitas membran serta terlepasnya komponen-komponen membran sel.

**Kerusakan morfologi sel dengan SEM (Scanning electron microscopy) *listeria monocytogenes***

Pengaruh campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa terlihat bahwa pada sel bakteri yang diberi perlakuan sebesar 1 MIC (Gambar 3b) sel memanjang dan membesar dibanding sel normal (Gambar 3a) sementara jika konsentrasi campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa ditingkatkan menjadi 2 MIC (Gambar 3c) terlihat sel mengecil dan berlubang pada bagian dinding sel. Pada sel normal diperoleh ukuran sebesar 1,3  $\mu m$

(panjang) dengan diameter 0,7  $\mu m$ , sedangkan perlakuan 1 MIC dan 2 MIC masing-masing diperoleh sebesar 0,6  $\mu m$  dan 0,4  $\mu m$  untuk diameter dan 2,6 dan 1  $\mu m$  untuk panjang sel.

Perubahan ini diduga karena asam lemak maupun asam organik yang terdapat pada metabolit *Lb. plantarum* kik-MAG minyak kelapa memudahkan masuknya antibakteri ke dalam sel yang selanjutnya akan berinteraksi dengan fosfolipid pada membran menyebabkan permeabilitas meningkat dan hilangnya unsur pokok penyusun sel, sehingga terjadi pembengkakan yang berakibat pada kematian sel. Keadaan ini menyebabkan membran sel tidak dapat menahan tekanan dari dalam sitoplasma akibatnya membran bocor, lalu diikuti dengan mengkerutnya sel yang menyebabkan kematian sel.

Fenomena kerusakan serupa ditemukan juga oleh Wang dan Davidson (1992), pemberian monolaurin sebesar 100  $\mu g/ml$  terjadi perubahan morfologi dari *L. monocytogenes* berupa pemanjangan bila dibandingkan dengan sel normal, dan ketika konsentrasi monolaurin ditingkatkan 200  $\mu g/ml$  maka ukuran sel menjadi mengecil diikuti dengan kerusakan di sekitar dinding sel bakteri. Hal serupa juga ditemukan oleh Ultee et al.,

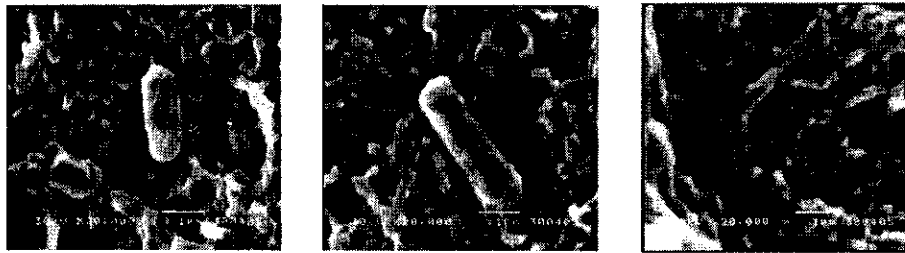
(2002) yang mengamatai efek sinergi dari carvacrol (asam lemah) dan cymene (senyawa non polar) terhadap *B. cereus*, menurutnya kerusakan sel bakteri oleh senyawa antibakteri menyebabkan pembengkakan sel akibat adanya akumulasi dari senyawa antibakteri lalu diikuti dengan kebocoran dan kematian sel.

Kerusakan pada dinding sel atau terhambatnya sintesis dinding sel oleh antibakteri mengakibatkan lisis pada sel. Pada lingkungan hipertonik kerusakan dinding sel mengakibatkan terbentuknya protoplast (bakteri Gram positif) atau sferoplast (bakteri Gram negatif). Kondisi ini menyebabkan sel membengkak, membran

terdesak ke arah dinding sel dan mengakibatkan sel pecah (Jawetz et al., 1996).

**Salmonela typhimurium**

Pengaruh campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa dapat dilihat pada Gambar ( 4a-4c) dimana pada sel yang normal terlihat permukaan sel yang mulus, agak bulat memanjang dengan ukuran diameter 1,2 µm dan panjang 2 µm. Pada penambahan campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa dengan konsentrasi 1 MIC sel nampak memanjang dari sel normal.



(a). Kontrol (b) 1 MIC (c) 2MIC

Gambar 3. Kerusakan Morfologi Sel *L. monocytogenes* yang diberi antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan MAG minyak kelapa pada berbagai dosis MIC (Pembesaran 20.000 X).



(a) (b) (c)

Gambar 4. Kerusakan Morfologi Sel *S. Typhimurium* yang diberi antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan MAG minyak kelapa pada berbagai dosis MIC (Pembesaran 15.000 X).

Adanya bentuk seperti yang terlihat pada Gambar 4b diperkirakan septa sudah terbentuk dan belum membelah akibat dari aktivitas campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa, sementara septa dibutuhkan untuk memperbanyak diri dengan cara membelah. Bila proses pembelahan septa terganggu, maka proses pertumbuhan juga akan terhambat. Terdapatnya komponen asam organik dan asam lemak terutama asam laktat dan asam laurat dalam campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa yang bekerja secara sinergi menyebabkan kerusakan membran, kebocoran protein intraseluler dan asam nukleat, serta penurunan aktivitas enzim yang berperan dalam pembentukan material genetik dan proses pembelahan sel. Hal ini sejalan dengan pernyataan Kim

et al., (1995) bahwa salah satu kemampuan dari senyawa antimikroba untuk merusak sel adalah dengan mengganggu pembentukan asam nukleat (DNA dan RNA) yang akan mempengaruhi transfer informasi genetik dengan menghambat aktivitas enzim RNA polimerase dan DNA polimerase.

Pada Gambar 4 c terlihat bahwa pemberian antibakteri metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa pada dosis 2 MIC menyebabkan kerusakan yang lebih parah. Permukaan sel mengalami kerusakan yang lebih besar (permukaan sel terlihat berlubang) dengan ukuran panjang dan diameter yang berbeda dengan perlakuan pada dosis yang lebih kecil. Keadaan ini menunjukkan bahwa campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa mampu menimbulkan

perubahan permeabilitas membran, dan mengakibatkan cairan sitoplasma merembes keluar sehingga terbentuk ruang antar sel yang akan meningkatkan porositas membran akibat melemahnya dinding sel. Dinding sel yang lisis mengakibatkan keluarnya cairan dalam jumlah besar dan menyebabkan sel mengkerut dan mati.

## KESIMPULAN

Campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa pada dosis 1 dan 2 MIC menyebabkan kerusakan pada dinding dan membran sel dari *L. monocytogenes*, *B.cereus* dan *S. Typhimurium* dengan melepaskan protein dan asam nukleat serta ion  $K^+$  dan ion  $Ca^{2+}$  ke lingkungan luar. Jumlah protein, asam nukleat dan ion-ion yang dilepaskan dipengaruhi oleh dosis pemberian campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa. Selain itu itu campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa menyebabkan terjadinya perubahan morfologi sel *L. monocytogenes* dan *S. Typhimurium* dengan tingkat kerusakan yang bervariasi. Mekanisme kerja dari campuran metabolit *Lb. plantarum* kik dan monoasilgliserol minyak kelapa umumnya diawali dengan mengganggu atau merusak dinding dan membran sel kemudian fungsi materi genetik, hal ini terjadi baik pada bakteri Gram negatif maupun Gram positif.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, melalui Proyek Hibah Bersaing XIV.

## DAFTAR PUSTAKA

- Asriani, Jenie BSL, Sedarnawati, Y dan Sudirman, I. 2005. Kajian efek sinergi antimikroba metabolit bakteri asam laktat dan monoasilgliserol minyak kelapa terhadap bakteri patogen pangan. *Jurnal Agroland* X11 (3):242 – 248.
- Alakomi HL, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T. 2000. Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:2001-2005.
- Bunduki MMC, Flanders KJ, Donnelly CW. 1995. Metabolic and structural sites of damage in heat and sanitizer-injured population of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Protect* 58:410 – 415.
- Burt SA, Reinders RD. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Appl Microbiol* 78:609-615.
- Davidson PM, Branen AL. 1993. *Antimicrobial in Food*. Merckel Dekker, new York.
- Friedman M, Henika PR, Levin CE, Mandreil RE. 2004. Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritica* in apple juice. 52:6042–6048. *J. Agric. and Food Chem.* 52 : 6042 – 6048.
- Heipieper HJ, Meulenbeld G, Qirschot Q, de Bont JAM. 1996. Effect of environmental factors on the trans/cis ratio of unsaturated fatty acids in *P. putida* S12. *App. and Env. Microbiol.* 62 : 6665-6670.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. 1996. *Medical Microbiology*. Appleton & Lange. San Fransisco.
- JEOL. 1995. *Specimen Preparation Methods for Scanning Electron Microscope*. JEOL Application Note. Tokyo. 23p
- Jenie BSL, Atifah N, dan Suliantari. 2001. Peningkatan keamanan dan mutu pindang ikan kembung (*Rastellingier sp*) dengan aplikasi kombinasi natrium asetat, bakteri asam laktat dan pengemasan vakum. *J. Ilmu dan Tekno Pangan* XII (1): 21-27.
- Kabara JJ. 1993. Antimicrobial agents derived from fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61:397-403.
- Kim JM, Marshal MR, Wei CI. 1995. Antibacterial activity of some essential components against five food borne pathogens. *J. Agric. and Food Chem.* 43: 2839-2845.
- Lavlinesia. 2004. Kajian pola dan mekanisme inaktivasi bakteri oleh ekstrak etil asetat biji atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk). Ringkasan Disertasi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. .
- Lin CM, James FP, Cheng IW. 2000. Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. *J. of Food Protect.* 61:727–734.
- Mappiratu, Umrah, Ijirana. 2002. Pemanfaatan sabun hasil samping pengolahan minyak kelapa dalam pembuatan monoasilgliserol menggunakan lipase *Aspergillus niger* amobil isolat kapang kopra. Laporan Penelitian RUT VIII/2 Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako.
- Nair MKM, Aboeizz H, Hoagland T, and Venkitanarayanan K. 2005. Antibacterial effect of monocaprylin on *Escherichia coli*

- O157:H7 in apple juice. *J. of Food Protec.* Vol. 69. No. 9: 1895–1899.
- Naufalin R.** 2005. Kajian sifat antimikroba ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai mikroba patogen dan perusak pangan. Disertasi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nikaldo H, Vaara M.** 1985. Molekuler basis of bacterial outer membrane permeability. *Microb. Reviews.* 49(1):1–32.
- Noor RR.** 2001. *Scanning Electron Microscope (SEM)*. Laboratorium Pemuliaan dan Genetika Ternak. Fakultas Peternakan IPB. Bogor.
- Nychas GJE, and Tassou CC.** 2000. Traditional preservative – oils and spices. Di dalam: Robinson RK, Batt CA, Patel PD (Ed). *Encyclopedia of Food Microbiology* Volume.2. Academic Press. London.
- Parhusip A.** 2006. Kajian mekanisme antibakteri ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap bakteri patogen pangan. Disertasi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Park YW.** 1996. Determination of moisture and ash contents of food. Di dalam Leo M.L. Nollet (ed). *Handbook of Food Analysis*. Volume 1. Marcel Dekker, Inc, Newyork. Basel. Hongkong.
- Park SJ, Park HW, and Park J.** 2003. Inactivation kinetics of food poisoning microorganisms by carbon dioxide and high hydrostatic pressure. *J. Food. Sci* 68(3):976–981.
- Russel AD.** 1984. Potential sites of damage in microorganisms exposed to chemical or physical agent. Di dalam Andrew MHE, Russel AD (ed). *The Revival of Injured Microbes*. Academic Press. London.
- Smith L, Mann JE, Harris K, Miller MF, and Brashears MM.** 2005. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in ground beef using lactic acid bacteria and the impact on sensory properties. *J. of Food Protec.* 68: 1587 – 1592.
- Stratford M.** 2000. Traditional preservatives-organic acids. Di dalam: Robinson RK, Batt CA, Patel PD, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Volume 1. Academic Press. London.
- Ultee A, Goris LGM, Smidt EJ.** 1998. Bacterial activity of carvacrol towards the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *J. App. Microbiol* 85:213-218.
- Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R.** 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *J. App. and Environ. Microbiol.* Vol 68, No 4: 1561-1568.
- Wang LL, Johnson EA.** 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. *J. App. and Environ. Microbiol.* Vol 58, NO 2:624–629.
- Wang LL, Yang BK, Parkin KL, and Johnson EA.** 1993. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by monoacylglycerol synthesized from coconut oil and milk fat by lipase-catalyzed glycerolysis. *J. Agric. and Food Chem.* 41:1000–1005.
- Yuk HG, Marshall DL.** 2005. Influence of acetic, citric, and lactic acids on *Escherichia coli* O157:H7 membrane lipid composition, verotoksin secretion, and acid resistance in simulated gastric fluid. *J. of Food Protec.* 68: 673-679.