

**KAJIAN LAMA REAKSI TERHADAP RENDEMEN MASSA DAN AKTIVITAS
ANTIMIKROBA PRODUK GLISEROLISIS**
(The study of reaction time on yield and antimicrobial activity of glycerolysis products from
palm kernel oil)

Havita Dwi Anggasari ¹⁾ dan Murhadi ²⁾

¹⁾ Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung

²⁾ Staf Pengajar Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl. Prof. Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung, Lampung 35145
Telp. 0721-781823; e-mail: murhadi_thp@unila.ac.id

ABSTRACT

The study was conducted to determine the effect of glycerolysis reaction time (48, 72, 96, 120 and 144 hours) on yield and antimicrobial activity of glycerolysis products from palm kernel oil (PKO) using rice bran as biocatalyst. The result showed that fractionation of glycerolysis products at all reaction time levels were yielding fraction A (61,8%) that higher than fraction B (21,8%) and fraction C (16,3%). Generally, all fractions (A, B and C) from all treatments have antimicrobial activity. Average of inhibition zone diameter (d) values of fraction C for all reaction time levels against *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, and *S. cerevisiae*, i.e. 7,66; 6,81; 1,33; and 9,09 mm/6 mg fraction, respectively. Antimicrobial activity of fraction C was higher than fraction A and B, especially against *S. aureus*, *B. subtilis*, and *S. cerevisiae* at 72 and 96 h. of reaction times. *Escherichia coli* is more resistant bacteria to all fractions than another microbes in this study. All fractions from all reaction time levels be able to reduce of total mold (*A. orizae*) colony with each average percentage of 79,6 (fraction A); 81,0 (fraction B); and 78,2% (fraction C).

Keywords: Glycerolysis, PKO, fraction, antimicrobial activity, resistant.

PENDAHULUAN

Buah sawit (*Elaeis guineensis* JACQ) menghasilkan dua macam jenis minyak utama yaitu minyak sawit mentah (crude palm oil; CPO) dan minyak inti sawit (palm kernel oil; PKO). PKO dihasilkan dari ekstraksi daging inti sawit (palm kernel), berwarna kuning dengan kandungan minyaknya 50% (Gurr, 1992). Komposisi asam lemak utama PKO adalah asam laurat (12:0; 45%), asam miristat (14:0; 18%), dan asam oleat (18:1; 15%); sedangkan pada CPO adalah asam oleat (18:1; 43%) dan asam palmitat (15:0; 42%; Gurr, 1992). Jenis dan komposisi asam-asam lemak

pada PKO relatif mirip dengan minyak kelapa, tetapi bersifat sedikit lebih padat, karena proporsi asam lemak jenuhnya lebih banyak.

Salah satu produk fungsional turunan yang dapat dihasilkan dari PKO adalah monoasilgliserol (MAG) dan diasilgliserol (DAG) yang dapat berfungsi baik sebagai pengemulsi dan atau pengawet. Selama ini MAG merupakan jenis emulsifier non ionik yang banyak digunakan dalam pembuatan produk: margarin, es krim, keju, dan mentega kacang (Sunches *et al.*, 1995; Igoe dan Hui, 1996). Jumlah penggunaan emulsifier MAG adalah sekitar 70% dari seluruh jenis emulsifier lain (O'Brien, 1998). Kelebihan

MAG sebagai emulsifier dibanding emulsifier lainnya, di antaranya tidak terlalu dipengaruhi oleh suasana asam dan basa serta bersifat multifungsi (Lukita, 2000).

Monogliserol merupakan suatu senyawa yang terdiri dari satu molekul gliserol yang mengikat satu molekul asam lemak dalam bentuk ester, terbentuk dari hasil gliserolisis triasilgliserol (TAG) dari minyak atau lemak menggunakan katalis kimia atau biokimia (enzim; Ketaren, 1986). Sugiharto (1996), melaporkan bahwa komposisi hasil reaksi gliserolisis minyak tergantung pada beberapa faktor seperti suhu, waktu, jenis, dan jumlah katalis yang digunakan serta perbandingan antara jumlah mol asam lemak dan gliserol. Semakin lama reaksi, akan terjadi peningkatan kadar DAG dan dilanjutkan dengan peningkatan MAG, tetapi jika gliserolisis terlalu lama menyebabkan kesetimbangan reaksi akan terlewati dan produk gliserolisis (MAG/ DAG) yang terbentuk dapat kembali menjadi bentuk bahan awal, yaitu TAG (Sugiharto, 1996).

Dengan kandungan asam laurat (12:0) yang sangat tinggi pada PKO, memungkinkan MAG yang terbentuk selain berpotensi sebagai pengemulsi juga diprediksi berpotensi sebagai pengawet bahan/produk pangan, karena adanya aktivitas antimikroba dari MAG tersebut. Hasil penelitian membuktikan bahwa MAG dari asam lemak rantai sedang, terutama dalam bentuk monolaurin, monokaprin dan monomiristin memiliki aktivitas antimikroba dengan spektrum luas (Wang *et al.*, 1993). Monolaurin sebagai ester gliserol dengan asam laurat (12:0) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, Gram negatif, kamir, kapang, dan sel-sel tumor / HIV-1 (Wang *et al.*, 1993; Bautista *et al.*, 1993; Cotton dan Marshall, 1997;

Mappiratu, 1999; Kovacs *et al.*, 1999). Monomeristin (14:0) juga dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes* dengan daya penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan monokaprin (10:0) dan monokaprilin (8:0; Wang *et al.*, 1993).

Hasil penelitian Mappiratu (1999), terbukti bahwa MAG khususnya ester asam laurat (monolaurin) dari minyak kelapa memiliki aktivitas antimikroba yang tinggi. Rhikova *et al.* (2002), juga melaporkan adanya aktivitas penghambatan *A. niger* oleh MAG dari minyak kelapa. Selain itu Mappiratu (1999) melaporkan bahwa daya hambat MAG terhadap mikroba juga dipengaruhi oleh waktu reaksi. Produksi optimum MAG melalui reaksi gliserolisis minyak kelapa adalah pada komposisi minyak kelapa : dedak padi : gliserol : heksana = 0,75 : 2,5 : 0,3 : 10,0 (b/b/b/v), pada suhu 37°C, pH 7, selama 72 – 120 jam (Mappiratu, 1999).

Dalam gliserolisis minyak, 1 mol TAG membutuhkan 2 mol gliserol untuk reaksi secara lengkap dengan menghasilkan 3 molekul MAG. Mappiratu (1999) menyatakan bahwa MAG yang terdapat dalam produk reaksi berasal dari 2 sumber, dari reaksi gliserolisis (selanjutnya dinyatakan MAG_g) dan dari reaksi hidrolisis DAG (selanjutnya dinyatakan MAG_h).

Mappiratu (1999) melaporkan untuk daya hambat produk gliserolisis minyak kelapa terhadap *B. cereus* dan *S. aureus* mencapai optimum pada waktu reaksi masing-masing 72 dan 144 jam dimana pada waktu tersebut persentase monolaurin mencapai nilai tertinggi dibandingkan dengan waktu reaksi lainnya, sedangkan terhadap kamir *S. cerevisiae* dan kapang *A. oryzae* penghambatan tertinggi masing-masing pada

waktu reaksi 48 dan 168 jam. Diduga bahwa perubahan daya hambat MAG terhadap kamir dan kapang pada berbagai waktu reaksi tidak hanya ditentukan oleh monolaurin saja tetapi kemungkinan juga ditentukan oleh monokaprilin, monokaprin, dan monomeristin. Praduga ini didasarkan bahwa pada waktu reaksi tersebut persentase monolaurin tidak berada dalam keadaan tertinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan lama reaksi gliserolisis PKO untuk menghasilkan produk reaksi dengan kandungan MAG yang optimum menggunakan biokatalis dedak padi dan untuk mengetahui aktivitas antimikroba produk reaksi gliserolisis yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama adalah minyak inti sawit (*Palm Kernel Oil*; PKO) dari buah sawit (*Elaeis quineensis jaqc*) yang diperoleh dari PT. Perkebunan VII Unit Usaha Bekri Lampung Tengah dan dedak padi dari usaha penggilingan padi di Kemiling Bandar Lampung. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari: etanol, dietil eter, heksana, buffer Tris-HCl 50 mM, akuades, gliserol anhidrat, etanol 95%, asam formiat, Na₂SO₄ anhidrat, dan Iodium kristal. Kultur mikroba terdiri dari: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Aspergillus orizae*. Media yang digunakan adalah NA (*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), PDA (*Potato Dextrise Agar*), dan PDB (*Potato Dextrise Broth*).

Alat-alat yang digunakan terdiri dari: shaker, corong Buchner, labu pemisah (separating funnel), rotavapor, oven, kertas saring Whatman No. 42, spotting capillaries, sentrifuge, penangas air, otoklaf, mikropipet,

inkubator, jangka sorong dan alat-alat gelas penunjang penelitian.

Rancangan dan Perlakuan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan faktor perlakuan tunggal (3 ulangan) yaitu lama rekasi gliserolisis PKO untuk 5 taraf: 48, 72, 96, 120 dan 144 jam. Reaksi gliserolisis PKO dilakukan dengan rasio minyak inti sawit, dedak padi, gliserol, dan heksana masing-masing adalah 0,75; 2,5; 0,3; dan 10,0 (b/b/b/v) pada suhu 37°C dan pH 7,0. Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk histogram yang selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

Persiapan Bahan

Penelitian diawali dengan penghilangan kotoran dari PKO dan penghilangan lemak dedak padi kasar. Penghilangan kotoran PKO dengan cara menyaring PKO menggunakan kertas saring Whatman No. 2, dibantu dengan pompa vakum pada corong Buchner.

Dedak padi yang digunakan adalah dedak padi kasar. Mula-mula dedak padi diayak (ayakan 20 mesh), kemudian dedak yang lolos diayak lagi dengan ayakan 60 mesh sehingga dihasilkan dedak kasar yang tertahan pada ayakan tersebut. Dedak padi tersebut dihilangkan lemaknya menggunakan heksana dengan cara perkolasi pada suhu kamar, kemudian dikering-anginkan sampai heksana relatif menguap semua. Setelah itu dedak padi kasar tersebut disimpan di dalam lemari pendingin untuk mempertahankan lipase yang ada dalam dedak padi tidak rusak.

Persiapan Kultur Mikroba

Kultur mikroba (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. cerevisiae*, dan *A. orizae*) dari biakan agar miring stok mikroba diambil satu mata ose untuk dibuat biakan agar miring

baru, lalu diinkubasi pada suhu 37°C (*S. aureus*, *B. subtilis*, dan *E. coli*) selama 24 jam dan pada suhu 30°C (*S. cerevisiae* dan *A. orizae*) selama 48 jam. Kemudian stok agar miring tersebut disimpan di dalam lemari pendingin sebagai stok mikroba.

Gliserolisis Minyak Inti Sawit

Produksi produk gliserolisis dari PKO dilakukan dengan mencampur PKO, dedak padi, gliserol dan heksana; masing-masing dengan perbandingan 0,75, 2,5; 0,3; dan 10,0 (b/b/b/v) di dalam wadah Erlenmeyer dan diatur pH-nya dengan menambahkan buffer Tris-HCl 50 mM hingga pH media reaksi gliserolisis menjadi sekitar 7, lalu ditutup dengan aluminium foil, direaksikan di atas shaker (300 rpm) pada suhu ruang selama 48, 72, 96, 120, dan 144 jam. Pemisahan produk reaksi gliserolisis dilakukan dengan penyaringan (kertas saring Whatman No. 42) sehingga dihasilkan filtrat 1 dan residu. Selanjutnya residu tersebut diekstrak kembali menggunakan campuran pelarut heksana, dietil eter dan etanol (2:2:1; v/v/v) dengan perbandingan 1 : 5 (b/v), diletakkan di atas shaker (150 rpm) selama 30 menit, lalu disaring sehingga menghasilkan filtrat 2 dan residu. Filtrat 1 dan filtrat 2 digabung, lalu dipekatkan dengan rotavapor untuk menghilangkan sisa pelarut, sehingga dihasilkan massa produk reaksi gliserolisis kasar yang masih mengandung PKO dan gliserol sisa.

Fraksinasi Massa Produk Reaksi

Fraksinasi massa produk reaksi gliserolisis PKO dilakukan dengan metode fraksinasi dingin (Mappiratu, 1999). Produk reaksi gliserolisis kasar ditambah pelarut etanol dengan perbandingan 1 : 3 (b/v), disentrifuge dingin (5-10°C; 4000 rpm)

selama 15 menit. Dari fraksinasi ini dihasilkan 3 fraksi terpisah yaitu fraksi A (fraksi paling atas), fraksi B (fraksi tengah), dan fraksi C (endapan). Masing-masing fraksi yang diperoleh kemudian dipisahkan dan dibebaskan dari pelarutnya, lalu ditimbang untuk menghitung rendemen fraksi massa produk reaksi tiap perlakuan dan dilakukan uji aktivitas antimikroba.

Rendemen Fraksi Massa Produk Reaksi

Rendemen masing-masing fraksi massa dihitung dengan cara membagi berat (mg) masing-masing fraksi massa hasil fraksinasi dengan berat (mg) produk reaksi gliserolisis kasar PKO, lalu dikali seratus persen.

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Setiap stok bakteri/kamir yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri/antikamir, selalu disegarkan kembali di dalam medium cair steril selama 24 jam pada 37 atau 30°C sesuai jenis mikroba, dihomogenkan dengan alat vorteks, lalu diinokulasikan sebanyak 20 µL ke dalam Erlenmeyer yang berisi 20 mL medium agar cair steril (44-45°C), dikocok merata, dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku. Selanjutnya dibuat 4 lubang (sumur) secara aseptis dengan diameter 6.0 mm. Ke dalam tiap lubang, diinokulasikan 60 µL fraksi produk gliserolisis PKO yang telah diencerkan dengan etanol teknis 95% (1:3, b/v). Sebagai kontrol, diinokulasi juga ke dalam lubang lain sebanyak 60 µL etanol 95%, lalu diinkubasi pada 37 atau 30°C (sesuai mikroba) selama 24 jam (cawan petri tidak dibalik).

Zona hambat yang diukur adalah jari-jari (r, mm) penghambatan berupa areal bening di sekeliling sumur uji. Pengukuran jari-jari (r, mm) zona hambat di sekeliling

sumur uji ke batas lingkaran zona hambat menggunakan jangka sorong (ketelitian 0,05 mm) pada beberapa sisi, lalu dirata-ratakan. Selanjutnya nilai diameter (d, mm) zona hambat hasil pengamatan langsung, diperoleh dengan perhitungan $d = 2 \times r$ (Gariga *et al.*, 1983; Murhadi 2002).

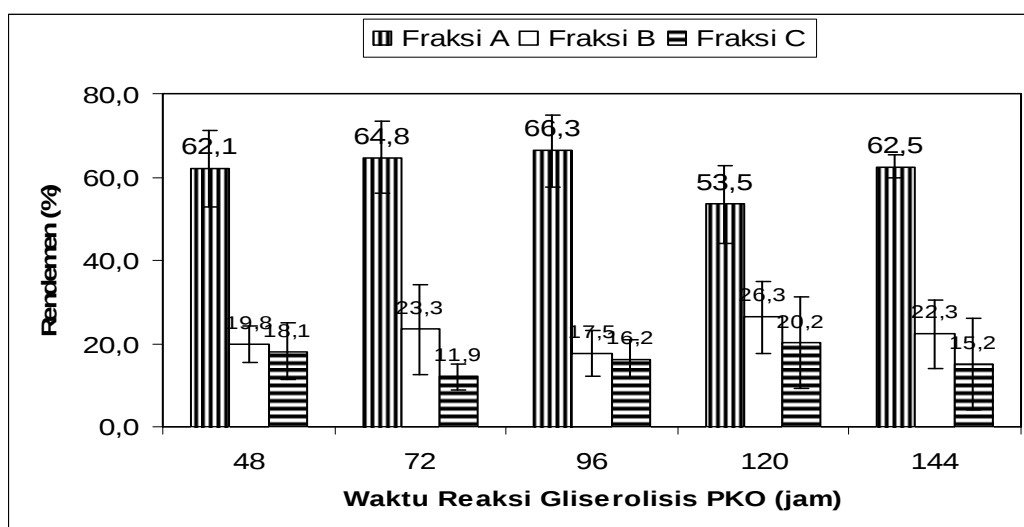
Pengujian aktivitas antikapang menggunakan kapang penguji *A. oryzae* dilakukan dengan metode uji kontak langsung melalui pengukuran total koloni kapang seperti pada pengukuran total koloni dengan metode Standar Plate Count (Fardiaz, 1987). Pengamatan ada tidaknya aktivitas antikapang pada produk gliserolisis PKO ditunjukkan oleh ada tidaknya penurunan jumlah koloni kapang dibandingkan dengan jumlah koloni kontrol yang dinyatakan dalam %. Kultur *A. oryzae* dari agar miring PDA diinokulasikan sebanyak 1 ose ke dalam 10 mL media PDB steril, kemudian diinkubasikan statis pada

37°C selama 48 jam, diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam 15 mL media cair (44-45°C) PDA steril, lalu ditambahkan 60 µL produk gliserolisis PKO, diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam, lalu dihitung total koloni yang tumbuh menggunakan *colony counter*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Fraksi Massa Produk Reaksi

Fraksinasi dingin terhadap produk reaksi gliserolisis kasar, menghasilkan tiga fraksi yaitu lapisan atas yang berwarna kuning (fraksi A), lapisan tengah yang berwarna coklat (fraksi B), dan endapan (fraksi C). Masing-masing fraksi dihilangkan pelarutnya dan ditimbang hingga berat tetap untuk mengetahui rendemen fraksi massa produk reaksi tiap perlakuan. Rendemen fraksi massa produk reaksi gliserolisis PKO, disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Histogram rendemen fraksi massa produk reaksi gliserolisis PKO.

Stevenson *et al.* (1999) di dalam Kurniawan (2003), menyatakan bahwa pada suhu rendah, MAG membentuk endapan sehingga MAG dapat diisolasi dari pelarut. Prinsip pembentukannya adalah TAG, DAG, MAG, dan ALB pada suhu yang tinggi masih bercampur dengan pelarut, sedangkan pada suhu rendah, masing-masing fraksi asilgliserol yang memiliki asam lemak jenuh akan mengendap sehingga relatif mudah dipisahkan. Hasil penelitian Mappiratu (1999) menunjukkan bahwa fraksinasi produk MAG dari hasil reaksi gliserolisis minyak kelapa dalam pelarut etanol dengan rasio etanol : produk reaksi 3 : 1 (v/v) pada suhu 5°C (pemusingan dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit) menghasilkan endapan hasil pemisahan dengan kadar MAG tertinggi.

Pada penelitian ini, diduga fraksi C (endapan) adalah fraksi yang paling banyak mengandung MAG. Secara umum perlakuan waktu reaksi gliserolisis relatif tidak berpengaruh terhadap rendemen masing-masing fraksi massa yang dihasilkan (berdasarkan nilai St.Dev.). Namun, fraksi massa A jauh lebih besar (rata-rata 61,8%) dibandingkan dengan fraksi massa B (rata-rata 21,8%) atau C (rata-rata 16,3%), sedangkan fraksi massa B dan C relatif sama (berdasarkan nilai St.Dev.). Oleh karena itu, dari segi efisiensi waktu reaksi gliserolisis, perlakuan waktu reaksi gliserolisis yang efisien adalah selama 48 jam dengan rendemen masing-masing fraksi massa A, B, dan C, masing-masing adalah 62,1; 19,8; dan 18,1 persen. Dengan rendemen fraksi C rata-rata perlakuan waktu reaksi adalah 16,3% dan pada perlakuan waktu reaksi selama 48 dan 120 jam adalah 18,1 dan 20,2 %, ternyata lebih rendah jika dibandingkan dengan rendemen produk MAG maksimum hasil penelitian oleh Mappiratu (1999) pada reaksi

gliserolisis minyak kelapa yang mencapai 54,8% dengan waktu reaksi 120 jam. Hal ini diduga karena proses fraksinasi produk gliserolisis PKO yang dilakukan belum dapat memisahkan produk hasil reaksi dengan sempurna, sehingga diduga sebagian MAG masih terkandung pada fraksi A dan fraksi B.

Aktivitas anti-*S. aureus*

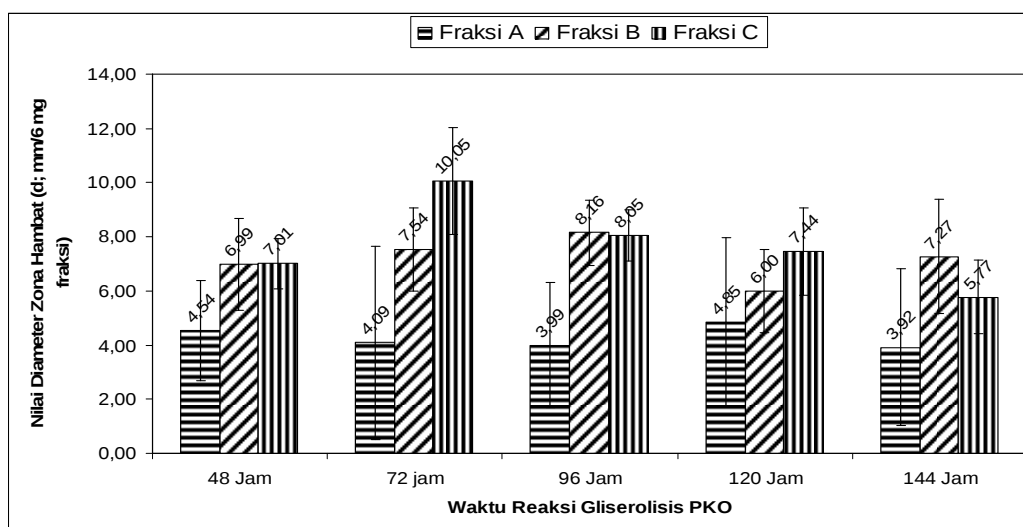
Aktivitas anti-*S. aureus* ditandai dengan adanya zona bening di sekitar sumur uji. Hasil pengukuran diameter (d, mm) zona hambat masing-masing fraksi massa (A, B dan C) hasil fraksinasi produk reaksi gliserolisis PKO untuk masing-masing perlakuan waktu reaksi terhadap bakteri penguji *S. aureus*, disajikan pada Gambar 2.

Fraksi A, B dan C untuk masing-masing perlakuan waktu reaksi gliserolisis relatif sama nilai zona penghambatannya terhadap *S. aureus*, khususnya pada waktu reaksi 48, 120 dan 144 jam, sedangkan pada waktu reaksi 72 dan 96 jam, fraksi C lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi A, namun relatif sama dengan fraksi B. Hal ini mengindikasikan bahwa kandungan MAG yang bersifat antibakteri pada fraksi C lebih tinggi daripada fraksi A dan B.

Pengaruh waktu reaksi terhadap aktivitas fraksi massa terhadap diameter zona hambat pada *S. aureus* oleh fraksi A dan B juga relatif sama, namun untuk fraksi C pada waktu reaksi 72 jam (d = 10,05 mm/6 mg fraksi) lebih tinggi dibandingkan dengan pada waktu reaksi 48 (7,81 mm/6 mg fraksi) dan 144 jam (5,77 mm/6 mg fraksi; terendah). Sementara terhadap waktu reaksi 96 (8,05 mm/6 mg fraksi) dan 120 jam (7,44 mm/6 mg fraksi) relatif sama (berdasarkan nilai St.Dev.). Hal tersebut menjelaskan bahwa pada waktu reaksi gliserolisis 72 jam adalah waktu terbaik untuk waktu gliserolisis PKO

untuk pembentukan fraksi C (senyawa anti bakteri, MAG) tertinggi, khususnya terhadap bakteri penguji *S. aureus*, yang merupakan bakteri Gram positif. Menurut Franklin dan Snow dalam Rahayu (1991), bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Bakteri Gram positif hanya mempunyai lapisan peptidoglikan yang

mengandung asam amino alanin yang relatif mudah ditembus oleh senyawa antibakteri semipolar. Menurut Pelczar dan Reid (1979), struktur dinding sel bakteri Gram positif relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.



Gambar 2. Aktivitas anti-*S. aureus* fraksi massa produk reaksi gliserolisis PKO.

Rata-rata diameter zona hambat fraksi C terhadap *S. aureus* untuk semua perlakuan waktu reaksi adalah 7,66 mm/6 mg fraksi). Seluruh fraksi (A, B, dan C) yang diujikan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa proses fraksinasi dingin yang dilakukan tidak optimal memisahkan senyawa antibakteri (MAG dan DAG) yang terdapat dalam produk reaksi gliserolisis PKO, sehingga MAG dan atau DAG diduga masih terkandung dalam masing-masing fraksi tersebut dengan konsentrasi bervariasi.

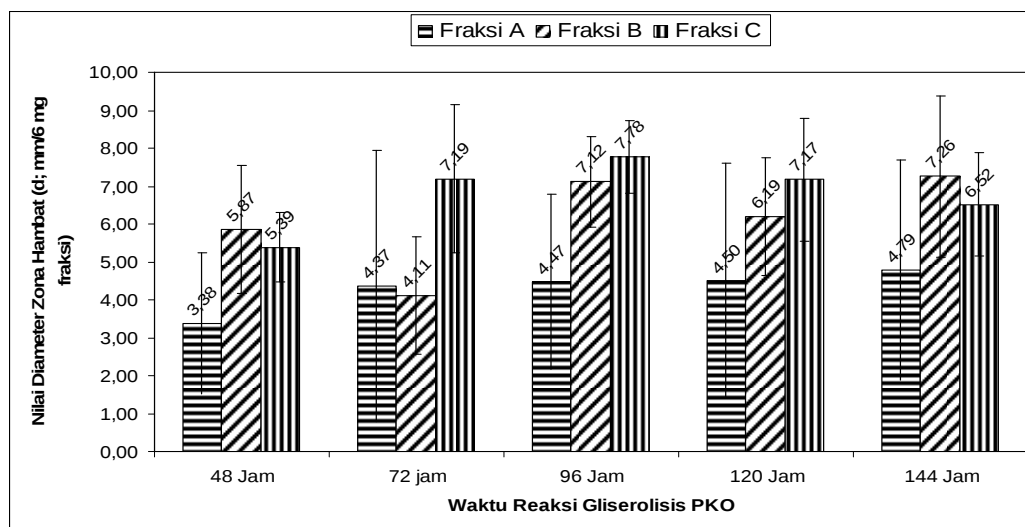
Aktivitas anti-*B. subtilis*

Hasil pengukuran diameter zona hambat masing-masing fraksi massa produk reaksi gliserolisis PKO untuk masing-masing perlakuan waktu reaksi terhadap bakteri penguji *B. subtilis*, disajikan pada Gambar 3.

Seluruh fraksi (A, B, dan C) yang diujikan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis*. Selanjutnya, berdasarkan nilai standar deviasi masing-masing taraf perlakuan, nilai diameter zona hambat fraksi A, B, dan C untuk masing-masing waktu reaksi adalah relatif sama. Fraksi C untuk waktu reaksi 96 jam (7,78 mm/6 mg fraksi) lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi C pada waktu reaksi 48 jam (5,39 mm/6 mg

fraksi), sedangkan terhadap fraksi C untuk perlakuan waktu reaksi yang lain relatif sama. Rata-rata diameter zona hambat fraksi C terhadap *B. subtilis* untuk semua perlakuan waktu reaksi adalah 6,81 mm/6 mg fraksi),

relatif sama dengan rata-rata daya hambat fraksi C terhadap *S. aureus*, yaitu dengan nilai $d = 7,66$ mm/mg fraksi. *Bacillus subtilis* dan *S. aureus*, keduanya merupakan bakteri Gram positif.



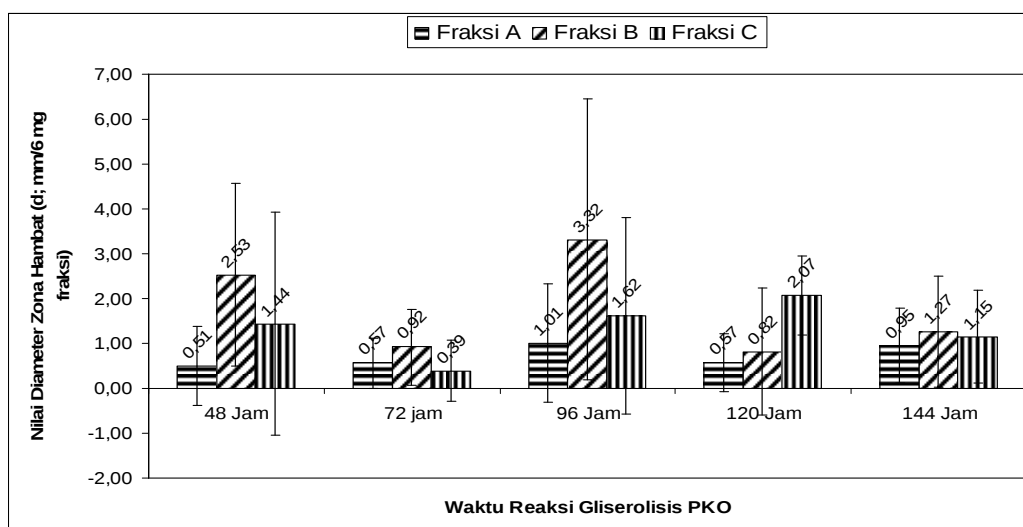
Gambar 3. Aktivitas anti-*B. subtilis* fraksi massa produk reaksi gliserolisi PKO.

Aktivitas anti-*E. coli*

Hasil pengukuran diameter zona hambat masing-masing fraksi massa produk reaksi gliserolisis PKO untuk masing-masing perlakuan waktu reaksi terhadap bakteri penguji *E. coli*, disajikan pada Gambar 4.

Seluruh fraksi (A, B, dan C) yang diujikan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, namun nilai diameter zona hambatnya sangat rendah, yaitu dengan nilai diameter zona hambat masing-masing fraksi untuk semua perlakuan waktu reaksi adalah: 0,72 (fraksi A), 1,77 (fraksi B) dan 1,33 mm/6 mg fraksi (fraksi C), jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan terhadap dua bakteri Gram positif, yaitu *S. aureus* dan *B. Subtilis*. Selanjutnya, berdasarkan nilai standar deviasi masing-masing taraf

perlakuan, nilai diameter zona hambat fraksi A, B, dan C untuk masing-masing waktu reaksi adalah relatif sama. Pelczar dan Chan dalam Erayana (2001) menyatakan bahwa bakteri Gram negatif termasuk *E. coli* cenderung lebih tahan terhadap komponen antibakteri karena struktur dinding sel bakteri Gram negatif berlapis-lapis dengan senyawa penyusun yang lebih kompleks.

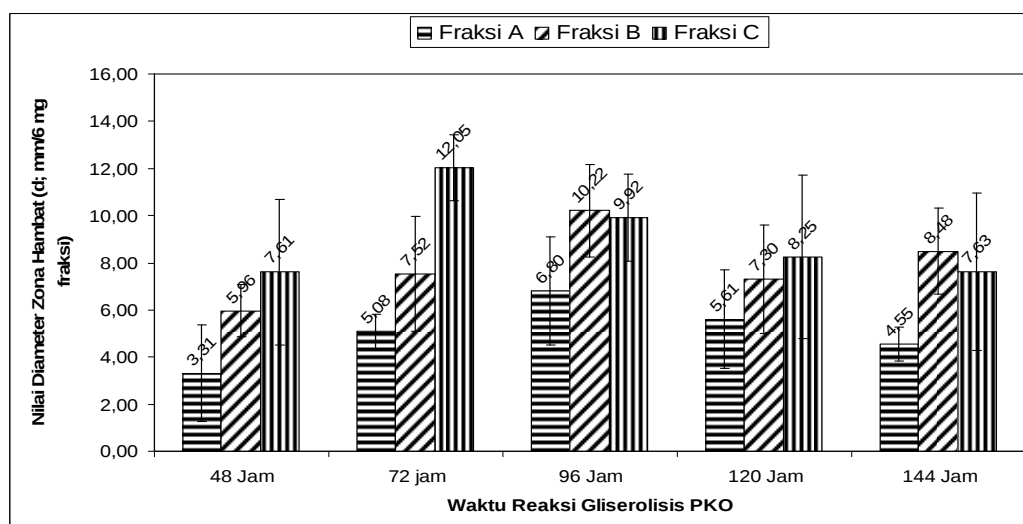


Gambar 4. Aktivitas anti-*E. coli* fraksi massa produk reaksi gliserolisis PKO.

Aktivitas anti kamir *S. cerevisiae*

Histogram diameter zona hambat masing-masing fraksi massa produk reaksi gliserolisis PKO untuk masing-masing

perlakuan waktu reaksi terhadap kamir penguji *S. cerevisiae*, disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Aktivitas anti-*S. cerevisiae* fraksi massa produk reaksi gliserolisis PKO.

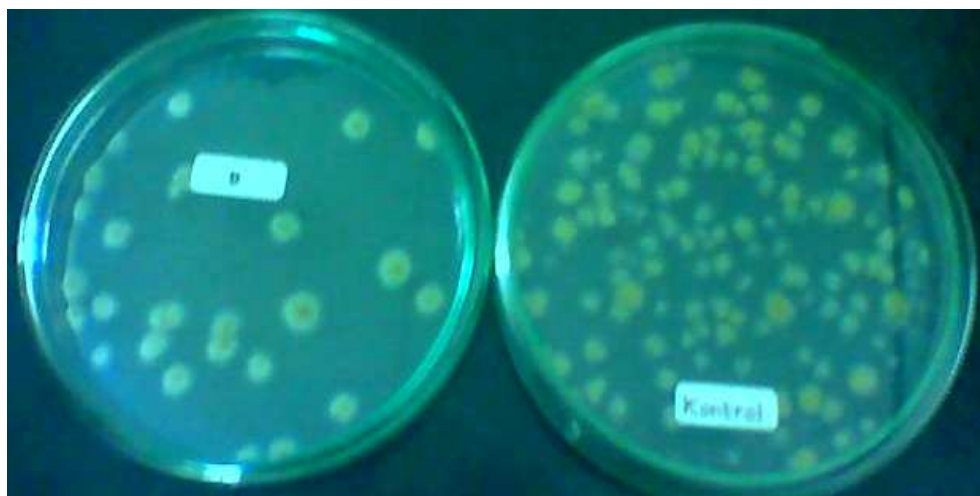
Seluruh fraksi (A, B, dan C) yang diujikan memiliki aktivitas antikamir terhadap *S. cerevisiae* dengan nilai diameter zona hambat fraksi C yang relatif tinggi, yaitu dengan nilai diameter zona hambat masing-masing fraksi untuk semua perlakuan waktu reaksi adalah: 5,07 (fraksi A), 7,90 (fraksi B) dan 9,09 mm/6 mg fraksi (fraksi C). Nilai diameter zona hambat Fraksi C terhadap kamir *S. cerevisiae* untuk waktu reaksi 72 jam adalah 12,05 mm/6 mg fraksi (tertinggi), lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi B (7,52 mm/6 mg fraksi) dan fraksi C (5,08 mm/6 mg fraksi), sedangkan untuk perlakuan waktu reaksi 48, 96, 120 dan 144 jam, nilai diameter zona hambat fraksi C dibandingkan dengan fraksi B dan fraksi A relatif sama (berdasarkan nilai St.Dev.).

Rata-rata diameter zona hambat fraksi C terhadap kamir *S. cerevisiae* yang relatif lebih

tinggi (9,09 mm/6 mg fraksi) dibandingkan dengan tiga bakteri penguji lainnya, yaitu terhadap *S. aureus* (7,66), *B. subtilis* (6,81), dan *E. coli* (1,33 mm/6 mg fraksi). Menurut Mappiratu (1999), aktivitas antikamir pada berbagai waktu reaksi tidak hanya ditentukan oleh monolaurin, akan tetapi juga ditentukan oleh monokaprilin dari gliserolisis minyak kelapa.

Aktivitas Antikapang *A. oryzae*

Pengamatan visual terhadap pertumbuhan kapang *A. oryzae* dalam medium pertumbuhan yang mengandung dan tidak mengandung MAG (Gambar 6) memperlihatkan fraksi C dari produk reaksi gliserolisis PKO berperan mereduksi jumlah koloni *A. oryzae*.



A

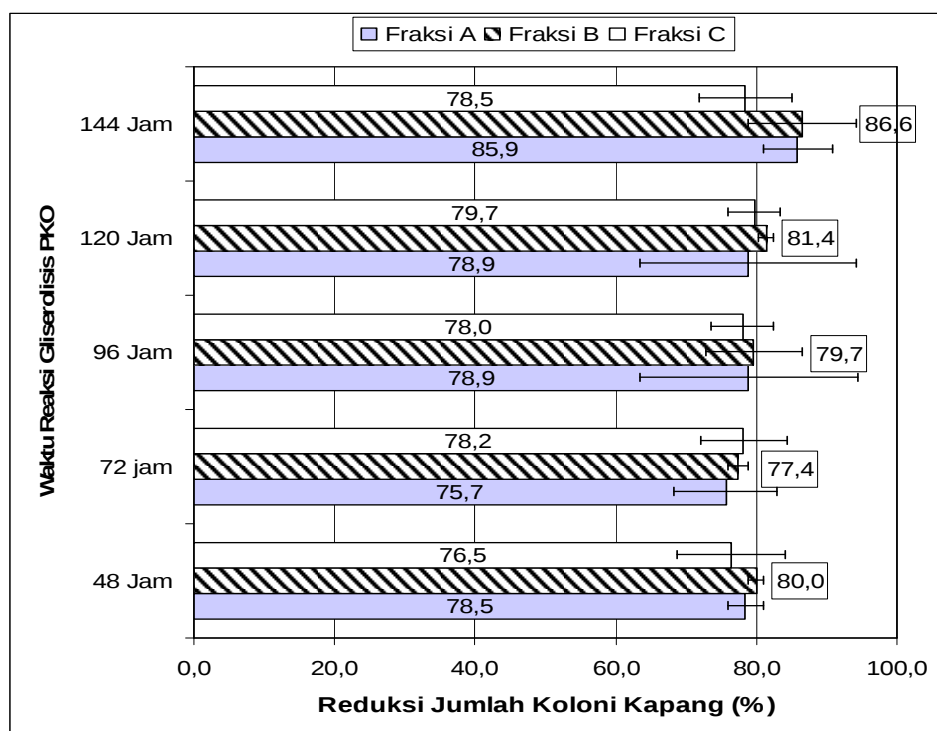
B

Gambar 6. Penampakan pertumbuhan kapang *A. oryzae* dalam medium yang mengandung (A) dan tidak mengandung (B) fraksi C dari produk reaksi gliserolisis PKO.

Histogram penghambatan tiap fraksi massa (A, B, dan C) terhadap kapang penguji *A. oryzae* dapat dilihat pada Gambar 7. Hasil pengukuran total koloni kapang, menunjukkan bahwa semua fraksi yang diuji mampu menurunkan jumlah koloni kapang *A. oryzae* yang tumbuh. Hal tersebut diindikasikan oleh total koloni kapang dalam

medium yang mengandung fraksi C relatif lebih rendah dibandingkan dengan total koloni kapang dalam medium yang tidak mengandung fraksi C (kontrol). Analisis terhadap besarnya reduksi total koloni kapang yang dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut.

$$\text{Reduksi total koloni (\%)} = \frac{\text{Total koloni kontrol} - \text{Total koloni Fraksi C}}{\text{Total koloni kontrol}} \times 100\%$$



Gambar 7. Persentase reduksi total koloni kapang *A. Oryzae*.

Seluruh fraksi (A, B, dan C) yang diujikan memiliki aktivitas antikapang terhadap *A. oryzae* dengan persentase rata-rata penurunan jumlah koloni masing-masing fraksi untuk semua perlakuan waktu reaksi adalah relatif sama, yaitu: 79,6 (fraksi A), 81,0 (fraksi B) dan 78,2% (fraksi C). Mappiratu (1999) menyatakan bahwa MAG yang sangat berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *A. oryzae* adalah monokaprin (MC10), dan monomeristin (MC14).

KESIMPULAN

Fraksinasi dingin (5-10°C) produk reaksi gliserolisi PKO dengan cara sentrifusi (4000 rpm, 15 menit) menggunakan etanol (1 : 3; b/v), menghasilkan tiga fraksi massa yaitu fraksi A (lapisan atas), fraksi B (lapisan tengah), dan fraksi C (endapan), semuanya memiliki aktivitas antimikroba dengan daya hambat yang relatif sama terhadap *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. cerevisiae* dan *A. oryzae*, mengindikasikan fraksinasi tersebut belum optimum untuk memisahkan senyawa MAG di dalam produk reaksi gliserolisis PKO.

Perlakuan waktu reaksi gliserolisis PKO relatif tidak berpengaruh terhadap rendemen masing-masing fraksi massa yang dihasilkan. Namun, fraksi massa A jauh lebih besar (rata-rata 61,8%) dibandingkan dengan fraksi massa B (rata-rata 21,8%) atau C (rata-rata 16,3%), sedangkan fraksi massa B dan C relatif sama.

Terdapat kecenderungan nilai d fraksi C yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi A dan B, khususnya pada waktu reaksi 72 dan 96 jam terhadap bakteri Gram positif (*S. aureus* dan *B. Subtilis*) dan terhadap kamir *S. cerevisiae*. Rata-rata nilai d fraksi C untuk semua perlakuan waktu reaksi terhadap *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, dan *S. cerevisiae*,

masing-masing adalah 7,66; 6,81; 1,33 (terendah); dan 9,09 (tertinggi) mm/6 mg fraksi. Rata-rata kemampuan fraksi A, B, dan C untuk semua perlakuan waktu reaksi dalam menurunkan jumlah koloni kapang *A. oryzae* relatif sama, masing-masing adalah 79,6 (fraksi A), 81,0 (fraksi B) dan 78,2% (fraksi C).

DAFTAR PUSTAKA

- Bautista, D. A., A. R. Hill, and M.W. Griffiths. 1993. An all natural approach to preserve cottage cheese. *Modern Dairy*, 72(1):12-13.
- Cotton, L.N. and D.L. Marshall. 1997. Monolaurin preparation methods effects activity against vegetative cell of *Bacillus cereus*. *J. Food Sci. Technol.*, 30(8):830-832.
- Erayana, E. 2001. Kajian Antibakteri dan Antioksidasi dari Bagian Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Fardiaz, S. 1987. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan. Jurusan TPG-Fateta IPB. Bogor.*
- Gariga, M., M. Hugas, T. Aymerich, and J.M. Monfort. 1983. Bacteriogenic activity of lactobacilli from fermented sausage. *App. Bacteriol.*, 75:142-148.
- Gurr, M.I. 1992. *Role of Fats in Food and Nutrition* (2nd Ed.). Elsevier Appl. Sci. London.
- Igoe, R. S. and Y. H. Hui. 1996. *Dictionary of Food Ingredients*. Chamoman and Hall. New York.

- Ketaren, S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Penerbit UI Press. Jakarta.
- Kovacs, A., M. Schluchter and K. Easley. 1999. Cytomegalovirus infection and HIV-1 disease progression in infant born to HIV-1-infected women. *New England J. Medicine*, 341:77-84.
- Kurniawan. 2003. Pengaruh Suhu dan Waktu Fraksinasi terhadap Produksi Emulsifier dari Buah Kelapa Sawit. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lukita, W. 2000. Pemurnian, Karakterisasi, dan Aplikasi Mono- dan Diasilgliserol yang Diproduksi dari Destilat Asam Lemak Minyak Kelapa Melalui Teknik Esterifikasi dengan Katalis Lipase. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mappiratu. 1999. Penggunaan Biokatalis Dedak Padi dalam Biosintesis Antimikroba Monoasilgliserol dari Minyak Kelapa. Disertasi. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Murhadi. 2002. *Isolasi dan karakteristik komponen antibakteri dari biji atung (Parinarium Glaberrinum Hassk)*. Disertasi. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- O'Brien, R. D. 1998. Fat and Oils: Formulating and Processing for Applications. Technomic Publ. Co. Inc. Lancaster. Basel.
- Pelczar, M.J. dan R.D. Reid. 1979. Microbiology. Tata McGraw Hill Book Co. Inc., Kogunha Co. Ltd., Tokyo.
- Rahayu, W.P. 1999. Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L. Swartz) terhadap Mikroba Patogen dan Perusak Pangan. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rihakova Z., V. Filip, M. Plockova, J. Smidrkal, and R. Cervenкова. 2002. Inhibition of *Aspergillus niger* DMF 0801 by Monoacylglycerols Prepared from Coconut Oil. *J. Food. Sci.* 20: 48-52.
- Sanches, C., C.F. Klopfenstein, and C.E. Walker. 1995. Use of carbohydrate-based fat shotbread cookies. *Cereal Chem.* 72(1):25-29.
- Sugiharto. 1996. Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Empat Fraksi Bahan Pengemulsi. *J. Teknologi dan Industri Hasil Pertanian.* 1(1): 20-27.
- Wang, L.L., B.K. Yang, K.L. Parkin, and E.A. Johnson. 1993. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by monoacylglycerols synthesized from coconut oil and milk fat by lipase-catalyzed glycerolysis. *J. Agric. Food Chem.* 41:1000-1005.