

KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA DAN ANTIBAKTERI VIRGIN COCONUT OIL HASIL FERMENTASI BAKTERI ASAM LAKTAT

[Physicochemical and Antibacterial Characteristics of Virgin Coconut Oil Fermented with Lactic Acid Bacteria]

Anton Rahmadi^{1)*}, Ipnatul Abdiah²⁾, Maya Dewi Sukarno²⁾ dan Titin Purnaningsih³⁾

¹⁾ Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Samarinda

²⁾ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Mulawarman, Samarinda

³⁾ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Palangka Raya, Samarinda

Diterima 16 Juli 2013 / Disetujui 05 Desember 2013

ABSTRACT

Destabilization of oil-water emulsion in coconut milk, in the production of virgin coconut oil (VCO), can be accelerated with the utilization of lactic acid bacteria fermentation. This research was aimed to determine physicochemical and antibacterial characteristics of VCO from coconut hybrid variety fermented with *L. casei* of Yakult® and two isolates of *L. plantarum* from mandai (traditionally fermented *Artocarpus campeden*) and coconut water. The observed physicochemical of VCO included yield, specific gravity, moisture content, saponification value, peroxide value, and free fatty acid. The antibacterial activity was subjected to the well diffusion method against *E. coli* and *S. aureus* with chloramphenicol as the positive control. *L. casei* yielded the best VCO-BAL at 34.5% (v/v), while *L. plantarum* from mandai and coconut water yielded 29.5% (v/v) and 25.3% (v/v), respectively. VCO-BAL from *L. casei* had the lightest specific gravity of $0.84 \pm 0.04 \text{ g.mL}^{-1}$. Average of measured moisture contents (0.03-0.05%), saponification values (161.3-163.6), peroxide values (0.53-0.86), and free fatty acids (0.11-0.12%) of the three VCO-BALs were not significantly ($p > 0.05$) different with respect to control. VCO-BAL produced from *L. plantarum* of coconut water did not exhibit better antibacterial activity compared to control. VCO-BAL from *L. casei* demonstrated highest antibacterial activity against *E. coli*, $6.45 \pm 0.50 \text{ mm}$ (58.1% of positive control) and *S. aureus*, $5.23 \pm 0.40 \text{ mm}$ (51.3% of positive control). It is deduced that antibacterial activity from VCO-BAL is contributed by hydrophobic bacteriocins.

Keywords: antibacterial activity, *L. casei*, *L. plantarum*, physicochemical characteristics, VCO

ABSTRAK

Destabilisasi emulsi minyak-air pada santan kelapa yang menghasilkan virgin coconut oil (VCO) dapat dipercepat dengan bantuan fermentasi bakteri asam laktat. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan karakteristik fisikokimia dan antibakteri yang dimiliki oleh VCO asal kelapa hibrida dengan metode fermentasi *Lactobacillus casei* galur komersial Yakult® dan *Lactobacillus plantarum* isolat mandai dan blondo kelapa terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji fisikokimia meliputi volume, berat jenis, kadar air, bilangan penyabunan, bilangan peroksida, dan uji asam lemak bebas. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumur difusi dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif. *L. casei* menghasilkan VCO-BAL dalam persentase volume secara signifikan ($p < 0.05$) lebih besar (34.5% v/v) dibandingkan VCO-BAL asal *L. plantarum* asal isolat mandai (29.5% v/v) dan blondo kelapa (25.3% v/v). VCO-BAL asal *L. casei* memiliki berat jenis paling ringan ($0.84 \pm 0.04 \text{ g.mL}^{-1}$). Rerata kadar air (0.03-0.05%), bilangan penyabunan (161.3-163.6), bilangan peroksida (0.53-0.86), bilangan asam lemak bebas (0.11-0.12%) dari VCO-BAL tidak berbeda signifikan ($p > 0.05$) dibandingkan VCO non BAL. VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blondo kelapa tidak menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan ($p > 0.05$) berbeda dibandingkan dengan VCO non BAL. VCO-BAL asal *L. casei* secara signifikan ($p < 0.05$) memiliki zona penghambatan terbaik terhadap *E. coli*, yaitu $6.45 \pm 0.50 \text{ mm}$ (58.3% dari kontrol positif) dan *S. aureus*, yaitu 5.23 ± 0.40 (51.3% dari kontrol positif), dibandingkan kedua VCO-BAL asal *L. plantarum*. Aktivitas antibakteri VCO-BAL diduga kuat dipengaruhi oleh bakteriosin hidrofobik.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, fisikokimia, *L. casei*, *L. plantarum*, VCO

PENDAHULUAN

Virgin coconut oil (VCO) adalah minyak kelapa hasil ekstraksi tanpa menggunakan panas yang menyebabkan perubahan komposisi ataupun karakteristik minyak (APCC, 2009). Emulsi minyak-air pada santan bersifat tidak stabil dikarenakan faktor kuantitas dan kualitas protein yang berfungsi sebagai emulsifier. Proses pemisahan terjadi secara alami dapat dengan bantuan gravitasi, dan diperlukan upaya

tambahan untuk percepatan deemulsifikasi minyak-air pada santan (Jena *et al.* 2006; Nour *et al.* 2009). Santan kelapa mengandung 54% air, 35% lemak dan 11% padatan non lemak (Tansakul dan Chaisawang, 2006). Bakteri asam laktat (BAL) akan memanfaatkan oligosakarida dan protein, mengubahnya menjadi asam laktat dan metabolit-metabolit lainnya (Surono, 2004).

BAL banyak terdapat dalam makanan tradisional, misalnya mandai yang berasal dari Kalimantan (Surono, 2004). BAL ternyata juga dikonfirmasi keberadaannya pada blondo kelapa (Murtius, 2008). *L. Plantarum* mendominasi spesies BAL yang berasal dari produk tanaman.

*Penulis Korespondensi:
Email: arahmadi@unmul.ac.id; Telp: 0812-5502073

BAL, secara umum, terbukti mampu menginduksi proses pemisahan minyak dan air dari santan kelapa (Che Man *et al.* 1997). Kondisi ekstraksi tanpa melibatkan panas dan mekanis pada proses fermentasi VCO-BAL dianggap memiliki banyak keuntungan seperti: kadar bilangan penyabunan, bilangan peroksida, dan asam lemak bebas yang rendah, dan sifat antibakteri yang diklaim lebih tinggi (Ali dan Dwiyanu, 2005). Hingga saat ini, publikasi yang membandingkan proses fermentasi VCO menggunakan beberapa jenis BAL untuk mengkonfirmasi keunggulan yang dimiliki oleh VCO-BAL masih sangat terbatas. Penelitian ini juga dilakukan sebagai aplikasi BAL hasil isolat makanan tradisional Kalimantan (mandai).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji karakteristik fisikokimia dan aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh VCO asal kelapa hibrida yang diperoleh dengan metode fermentasi dari *L. casei* galur komersial Yakult® dan *L. plantarum* isolat mandai dan blonde kelapa terhadap patogen umum Gram negatif (*Escherichia coli*) dan Gram positif (*Staphylococcus aureus*).

BAHAN DAN METODE

Kelapa

Buah kelapa hibrida diperoleh dari sekitar wilayah Samarinda, Kalimantan Timur. Kelapa yang digunakan berusia 11-13 bulan sesuai dengan parameter kematangan yang ditetapkan oleh Suhardiman (2000). Kelapa disimpan dalam bentuk utuh selama 1-4 minggu ditempat kering pada suhu ruangan (25-28°C) sebelum digunakan.

Biakan mikroba

L. plantarum diperoleh dari hasil fermentasi mandai dan air blonde minyak kelapa dan dimurnikan pada medium MRSA. *L. casei* diperoleh dari minuman Yakult®. Bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh dari kultur koleksi FMIPA Universitas Mulawarman. Kultur stok isolat-isolat murni dari *L. plantarum* dan *L. casei* dibiakkan di atas medium MRSA (Oxoid, Basingstoke) agar miring yang diberi CaCO₃ (Merck) dibagian dasar agar miringnya dan disimpan pada suhu 5°C sebelum digunakan. Penyegaran isolat dilakukan di dalam 10 mL medium MRSB (Oxoid, Basingstoke) pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, isolat yang telah disegarkan (2-3%) diinokulasikan di dalam 200 mL medium susu skim (Nestle, Pasuruan Indonesia) dengan komposisi 10% susu skim, 1% pepton (Merck), 2% glukosa (Merck), dan 2% yeast extract (Merck). Medium susu skim diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam. Medium susu skim yang berisi masing-masing isolat bakteri asam laktat akan digunakan pada proses fermentasi VCO.

Pembuatan VCO

Kelapa hibrida dikupas dan diambil daging buahnya. Sebanyak empat buah kelapa diparut menggunakan mesin pamarut. Selanjutnya kelapa parut direndam dalam air matang (1:2, b/v) bersuhu panas kuku (50°C) dan diberi tekanan selama 30 menit sebelum disaring. Campuran santan dan ampas tersebut disaring menggunakan kain kasa dan ampasnya dibuang. Santan yang diperoleh didiamkan selama 1 jam,

sehingga kepala santan (di bagian atas campuran) terpisah dengan air (di bagian bawah). Kepala santan diambil dan digunakan untuk penelitian.

Kepala santan (250 mL) digunakan pada masing-masing perlakuan dan diletakkan di dalam gelas Baker. Tiga perlakuan dan satu kontrol digunakan dalam melakukan fermentasi minyak kelapa. Kepala santan tanpa penambahan kultur bakteri (kontrol), dengan penambahan 2% *L. plantarum* asal fermentasi mandai yang telah disiapkan pada medium susu skim (perlakuan 1), dengan penambahan 2% *L. plantarum* asal air blonde kelapa yang telah disiapkan pada medium susu skim (perlakuan 2), dan dengan penambahan 2% *L. casei* yang telah disiapkan pada medium susu skim (perlakuan 3). Gelas Baker ditutup dengan aluminium foil hingga rapat dan setiap santan kelapa tersebut didiamkan pada suhu 37°C selama 24 jam. Minyak kelapa murni (VCO) akan berada di lapisan atas dari campuran dan dipisahkan dengan cara disendok secara perlahan. Minyak kelapa dari masing-masing perlakuan fermentasi selanjutnya dipindahkan ke dalam botol gelap dan disimpan di ruangan gelap pada suhu 25°C sebelum analisis.

Uji fisikokimia

Persentase volume (*yield*) dihitung dari volume VCO yang dihasilkan dari 100 mL kepala santan. Berat jenis diukur dengan menimbang massa VCO (gram) yang dihasilkan dibandingkan dengan volume VCO (mL). Uji fisikokimia meliputi kadar air, bilangan penyabunan, bilangan peroksida, dan uji asam lemak bebas berdasarkan metode analisis umum lemak atau minyak (Sudarmadji *et al.* 1996). Hasil uji fisikokimia kemudian dibandingkan dengan standard APCC (2009).

Analisis uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumur difusi. Sebanyak 0.5 mL suspensi (1×10^6 CFU/mL) bakteri uji, *S. aureus* dan *E. coli*, diinokulasikan ke dalam masing-masing cawan petri dan kemudian ditambahkan medium nutrient agar (NA) dari Merck sebanyak 25 mL dan kemudian dihomogenkan dan dibiarkan mengeras. Lubang sumur dibuat dengan diameter 0.5 cm menggunakan pencadangan steril. Setiap cawan petri memiliki enam sumur yang ditambahkan dengan 50 µL akuades steril (P-), antibiotik kloramfenikol (Kimia Farma, Jakarta) 10mM (P+), VCO non BAL (P0), VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat mandai (P1), VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blonde kelapa (P2), dan VCO-BAL asal *L. casei* (P3). Cawan petri diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter areal bening yang terbentuk di sekeliling sumur sebanyak tiga kali untuk diambil rata-ratanya. Pengamatan dilakukan sebanyak 2 kali ulangan, triplo.

Teknik analisis data

Data pada setiap pengamatan yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan Microsoft Excel untuk memperoleh nilai standar deviasi, dan SPSS untuk uji lanjut BNT pada taraf galat (α) 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

L. plantarum sebagai BAL hasil seleksi dengan medium MRSA yang terdapat pada mandai dan blondo kelapa memiliki karakteristik morfologi sel berbentuk batang, Gram positif, tidak berspora, non-motil, dan berkatalase negatif. Keberadaan *L. plantarum* pada mandai dan blondo kelapa dikonfirmasi oleh peneliti lainnya (Surono, 2004; Murtius, 2008).

Tabel 1 menyajikan informasi konsentrasi bakteri asam laktat pada medium susu skim setelah diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 37°C sebelum diintroduksikan kepada kepala santan dan pada fraksi air (blondo) masing-masing perlakuan fermentasi VCO setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi bakteri asam laktat mencapai 6 skala eksponensial per ml susu skim (Tabel 1). Masing-masing biakan starter ini kemudian digunakan untuk memfermentasi kepala santan, sehingga emulsi minyak-air dapat terpecah. Konsentrasi bakteri asam laktat pada santan setelah masa inkubasi 24 jam berada pada 5 skala eksponensial per mL santan (Tabel 1). Ini membuktikan bahwa *L. plantarum* dan *L. casei* dapat hidup dan tumbuh di medium santan, sekalipun kerapatannya menurun sebanyak 1 skala eksponensial dibandingkan dengan medium inokulum susu skim.

Tabel 1. Konsentrasi bakteri asam laktat inokulum dan blondo sisa VCO

Isolat	Total Bakteri Asam Laktat (CFU.mL ⁻¹)	
	Inokulum	24 Jam Inkubasi
P1	1.7 x 10 ⁶ ±5.3 x 10 ⁴	1.7 x 10 ⁶ ±6.3 x 10 ⁴
P2	1.6 x 10 ⁶ ±7.5 x 10 ⁴	1.8 x 10 ⁶ ±7.9 x 10 ⁴
P3	1.8 x 10 ⁶ ±6.8 x 10 ⁴	1.7 x 10 ⁶ ±1.0 x 10 ⁵

P1= VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat mandai, P2 = VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blondo kelapa, P3 = VCO-BAL asal *L. casei*

Terdapat dua proses pemisahan minyak-air pada santan, yaitu: gangguan mikrostruktur pada emulsifier alami dan penurunan pH sebagai akibat pemanfaatan pati pada santan. Globulin, albumin dan fosfolipid berfungsi sebagai emulsifier alami minyak-air pada santan kelapa (Raghavendra dan Raghavarao, 2010). Salah satu cara kerja dari emulsifier adalah memiliki permukaan aktif (*surface active*) yang dapat mengelilingi droplet lemak sehingga lemak tetap terdispersi di dalam air (Tangsuphoom dan Coupland, 2009). Gangguan mikrostruktur pada emulsi minyak-air, misalnya akibat pemanfaatan protein dan sekresi protease ekstraseluler oleh BAL, dapat menyebabkan agregasi droplet-droplet minyak (Jirapeangtong *et al.* 2008).

Tabel 2. Karakteristik fisikokimia dari VCO non BAL dan VCO-BAL asal *L. plantarum* dan *L. casei*

Sampel	Yield (% v/v)	ρ (g.mL ⁻¹)	KA (%)	SV	PV	FFA (%)
P0	23.0±0.89 ^a	0.86±0.03 ^b	0.04±0.01	163.6±2.23	0.66±0.40	0.12±0.02
P1	29.5±1.21 ^b	0.87±0.02 ^b	0.03±0.02	162.0±1.35	0.80±0.73	0.11±0.04
P2	25.3±3.08 ^a	0.89±0.03 ^c	0.05±0.02	163.1±2.51	0.86±0.55	0.11±0.02
P3	34.5±2.07 ^c	0.84±0.04 ^a	0.05±0.01	161.3±1.82	0.53±0.40	0.12±0.03

KA = kadar air, SV = bilangan penyabunan, PV = bilangan peroksida, FFA = bilangan asam lemak bebas. P0 = VCO non BAL, P1= VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat mandai, P2 = VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blondo kelapa, P3 = VCO-BAL asal *L. casei*

Kadar pati di dalam santan kelapa berkisar 5.5-6.2% (Marina *et al.* 2009). Enzim α-amilosa (99.5 kDa) pada *L. plantarum* bekerja mengkatalisis pemecahan pati menjadi maltotriosa dan maltotetraosa dengan aktivitas mencapai 30-40% pada suhu 25-30°C dibandingkan pada suhu optimumnya (60°C) (Talamond *et al.* 2002). Lebih lanjut, maltotriosa dan maltotetraosa dapat dikonversi menjadi asam laktat oleh BAL (Reddy *et al.* 2008; Petrova *et al.* 2013). Asam laktat menurunkan pH santan. Protein-protein santan terkoagulasi akibat tercapainya titik isoelektrik menyebabkan minyak terpisah dari emulsi (Raghavendra dan Raghavarao, 2011).

Persentase volume yang dihasilkan dari proses fermentasi VCO dengan BAL berada pada kisaran 23.0% hingga 34.5%, dimana VCO-BAL asal *L. casei* memiliki *yield* terbaik. *L. casei* menghasilkan VCO-BAL dalam persentase volume secara signifikan ($p < 0.05$) lebih besar (34.5%) dibandingkan VCO-BAL asal *L. plantarum* maupun VCO tanpa penambahan kultur BAL (kontrol).

Berat jenis dari VCO BAL dan non BAL berada pada kisaran 0.84-0.89 g.mL⁻¹, dimana VCO-BAL asal *L. casei* memiliki berat jenis paling ringan dibanding lainnya. VCO-BAL memiliki berat jenis yang lebih rendah dari standar VCO, yaitu 0.91-5-0.920 (APCC, 2009). VCO-BAL asal *L. casei* memiliki berat jenis paling ringan (0.84±0.04 g.mL⁻¹).

Semua VCO yang diproduksi memenuhi kriteria yang ditetapkan APCC (2009) dan mengkonfirmasi temuan sebelumnya (Che Man *et al.* 1997). Tidak ada perbedaan yang signifikan dari bilangan penyabunan, bilangan peroksida dan bilangan asam lemak bebas dari semua VCO yang diproduksi (Tabel 2). Ini menyebabkan hipotesis pertama ditolak, VCO hasil fermentasi dengan penambahan kultur BAL memiliki karakteristik fisikokimia yang cenderung sama dibandingkan VCO kontrol. Keistimewaan dari VCO-BAL bukan terletak dari karakteristik fisikokimianya. Hasil serupa juga dilaporkan pada penelitian-penelitian yang serupa (Seneviratne *et al.* 2009; Marina *et al.* 2009). Pengamatan dilakukan setelah setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Nilai a, b, dan c merupakan kelompok dalam analisis BNT pada taraf 5%. Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata antar perlakuan.

Semua VCO mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Tetapi, VCO-BAL asal blondo kelapa tidak berbeda secara signifikan ($p > 0.05$) dibandingkan dengan VCO kontrol. VCO-BAL asal *L. casei* memiliki daya hambat yang superior, 58.1% terhadap kontrol positif, dibandingkan dengan VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blondo kelapa dan mandai, yaitu 27.3 dan 44.6% terhadap kontrol positif (Tabel 3).

Tabel 3. Rata-rata zona hambatan dari tiap perlakuan produksi VCO terhadap bakteri uji *Escherichia coli* setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C

Perlakuan	Rata-rata Penghambatan pada Bakteri Uji <i>E. Coli</i>	
	Diameter Zona Hambatan (mm)	% Penghambatan Rata-rata vs Kontrol Positif
P(-)	0.00	0
P(+)	11.10±0.53	100
P0	2.62±0.45 ^a	23.6
P1	4.95±0.65 ^b	44.6
P2	3.03±0.68 ^{ab}	27.3
P3	6.45±0.50 ^c	58.1

P(-) = akuades steril, P(+)= antibiotik kloramfenikol, P0 = VCO non BAL, P1= VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat mandai, P2 = VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blondo kelapa, P3 = VCO-BAL asal *L. casei*. Nilai a,b, dan c merupakan kelompok dalam analisis BNT pada taraf 5%. Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata antar perlakuan

VCO-BAL dan non BAL mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Namun, VCO-BAL asal *L. casei* memiliki daya hambat yang secara signifikan ($p < 0.05$) lebih baik, yaitu 51.3% dibandingkan dengan kontrol positif. VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat mandai memiliki daya hambat terhadap *S. aureus* yang signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan dengan VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blondo kelapa ataupun VCO non BAL, yaitu 39.7% terhadap kontrol positif (Tabel 4). Sekali lagi, VCO-BAL asal blondo kelapa tidak berbeda secara signifikan ($p > 0.05$) dibandingkan dengan VCO kontrol. Ini membuktikan bahwa tidak semua VCO yang diproduksi dengan penambahan kultur BAL memiliki daya antibakteri yang signifikan lebih baik dibandingkan VCO kontrol.

Tabel 4. Rata-rata zona hambatan dari tiap perlakuan produksi VCO terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C

Perlakuan	Rata-rata pada Bakteri Uji <i>S. aureus</i>	
	Diameter Zona Hambatan (mm)	% Penghambatan Rata-rata vs Kontrol Positif
P(-)	0.00	0
P(+)	10.20±0.55	100
P0	2.25±0.56 ^a	22.1
P1	4.05±0.80 ^b	39.7
P2	2.60±0.57 ^{ab}	25.5
P3	5.23±0.40 ^c	51.3

P(-) = akuades steril, P(+)= antibiotik kloramfenikol, P0 = VCO non BAL, P1= VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat mandai, P2 = VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blondo kelapa, P3 = VCO-BAL asal *L. casei*. Nilai a,b, dan c merupakan kelompok dalam analisis BNT pada taraf 5%. Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata antar perlakuan

Tidak semua VCO yang diproduksi dengan penambahan kultur BAL memiliki daya antibakteri yang signifikan lebih baik dibandingkan VCO kontrol. Oleh karena itu, setiap faktor antibakteri kemudian dikonfirmasi dengan literatur-literatur yang telah ada. Aktivitas antibakteri dari VCO-BAL dapat disebabkan oleh asam lemak rantai sedang (asam laurat dan miristat), komponen antioksidan, komponen asam organik dan aromatik, dan bakteriosin hidrofobik.

Asam lemak rantai sedang merupakan ciri khas dari minyak kelapa, terdiri dari asam laurat (43-53%), asam miristat (16-21%), asam palmitat (7.5-10%), asam kaprilat (5-10%), dan

asam kaprat (4.5-8%). Beberapa asam lemak rantai sedang, terutama asam laurat, diklaim memiliki sifat bakterisidal atau mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Villarino *et al.* 2007). Akan tetapi, tidak ada perbedaan signifikan pada komposisi miristat dan laurat antara VCO hasil fermentasi BAL (VCO-BAL) dengan hasil ekstraksi mekanis (Seneviratne *et al.* 2009; Mansor *et al.* 2012).

Aktivitas antioksidan fenolik dapat dilihat dengan uji 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan uji degradasi deoksiribosa. Dari kedua uji tersebut, aktivitas antioksidan fenolik pada hasil ekstraksi dingin (30°C) lebih tinggi secara signifikan dibandingkan pada hasil ekstraksi panas (100-120°C), dengan komponen antioksidan utama berupa asam gallat (28.1±10.5 mg/kg minyak), epigallocatekin (26.7±1.7 mg/kg minyak), dan asam syringic (1.4±0.1 mg/kg minyak). VCO memiliki kandungan total fenolik 1.8-3.0 kali lebih tinggi dibandingkan dengan *refine, bleached, and deodorized coconut oil* (RBDCO) (Seneviratne *et al.* 2009). Tanin, termasuk didalamnya asam gallat dan epigallocatekin mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus* dan *Salmonella* (Rodriguez-Vaquero *et al.* 2011). Komponen-komponen antioksidan tersebut memberikan pengaruh terhadap peningkatan daya hambat dari VCO-BAL sekaligus VCO kontrol (Lacombe *et al.* 2010). Dari uraian ini dapat disimpulkan bahwa efek antimikrobal akibat antioksidan fenolik VCO bukan menjadi faktor yang membedakan VCO-BAL dan VCO kontrol.

VCO hasil fermentasi diketahui memiliki komponen asam organik dan aromatik seperti asam asetat, asam laktat, heksanal, dan nonanal yang lebih tinggi dibandingkan dengan VCO hasil sentrifugasi (Santos *et al.* 2011). Asam organik seperti asetat dan laktat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Carpenter *et al.* 2011). Hexanal dan 2-hexenal mampu mengurangi kecepatan tumbuh dari populasi mikroba mesotrofik dan psikrotropik pada buah olah minimal di suhu dingin (Patrignani *et al.* 2008). Nonanal dan α, β -unsaturated aldehid juga menunjukkan penghambatan pada *S. aureus* dan *Salmonella choleraesuis* disamping menunjukkan daya antifungal (Kubo *et al.* 2004). Diduga, komponen-komponen asam organik dan aromatik tersebut juga memberikan pengaruh terhadap peningkatan daya hambat dari VCO-BAL dibandingkan dengan VCO kontrol. Efek antibakteri senyawa-senyawa aromatik bersifat lebih lemah dibandingkan asam organik (Kubo *et al.* 2004). Kelarutan asam asetat dan laktat lebih baik pada air dibandingkan minyak dan kadar air dari VCO berkisar pada 0.1-0.5% (Che Man *et al.* 1997). Kandungan asam laktat di dalam VCO-BAL hanya berkisar 0.03-0.37% dengan inokulum starter *L. plantarum* sebanyak 0-5% dari total volume santan (Che Man *et al.* 1997). Dapat disimpulkan bahwa efek dari asam organik dan aromatik terhadap aktivitas antibakteri dari VCO cenderung terbatas.

Pada minyak kelapa murni hasil fermentasi bakteri asam laktat, juga terkandung bakteriosin yang diproduksi oleh BAL. Bakteriosin dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang merugikan seperti *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, dan *Staphylococcus aureus* (Surono, 2004). Plantarisin adalah bakteriosin dengan bobot 3.5 kDa yang umum ditemukan sebagai metabolit dari *L. plantarum* (Gong *et al.* 2010). Plantarisin dapat dikarakterisasi lebih lanjut menurut gugus-

gugus peptida hidrofobiknya. Sebagai contoh, plantarisin C, memiliki terdiri dari banyak asam amino glisin yang bersifat hidrofobik, sehingga kelarutannya lebih baik di lemak atau minyak (Cotter *et al.* 2005). Tidak semua isolat *L. plantarum* mampu menghasilkan plantarisin C, namun dapat juga plantarisin EF, JK, S, T atau W yang bersifat kurang hidrofobik dibandingkan plantarisin C (Anderssen *et al.* 1998; Tsapieva *et al.* 2011). Produksi spesies plantarisin oleh *L. plantarum* dipengaruhi oleh tiga sistem transduksi sinyal, yaitu peptida feromon (PlnA), kinase protein histidin (PlnB), dan duga reseptor homolog (PlnC dan PlnD) (Risoen *et al.* 2001; Zhao *et al.* 2006).

Lebih lanjut, bakteriosin memiliki kemampuan untuk menyesuaikan kelarutannya terhadap medium (Abriouel *et al.* 2001). Sebagai contoh, bakteriosin AS-48 dari *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens* dalam kondisi pH netral banyak ditemui sebagai oligomer yang bersifat hidrofobik. Pada pH asam, bakteriosin ini berbentuk monomerik (Sanchez-Barrena *et al.* 2003; Abriouel *et al.* 2001). Oligomerisasi bakteriosin juga menyebabkan mudahnya bakteriosin masuk kedalam membran bipeptida dari bakteri Gram negatif dan positif yang berimplikasi pada pembentukan pori-pori membran dari bakteri-bakteri tersebut. Plantarisin A pada konsentrasi nanomolar dapat menyebabkan gangguan zwitter ionik fosfolipid pada membran sel (Zhao *et al.* 2006).

Diduga *L. plantarum* dari hasil isolat mandai memproduksi plantarisin hidrofobik dibandingkan isolat dari blonde kelapa. Sebagai akibatnya, VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat mandai memiliki daya inhibisi yang lebih besar (40%) dibandingkan VCO-BAL asal *L. plantarum* isolat blonde kelapa (25-30%). *L. casei* diduga memproduksi bakteriosin hidrofobik, sehingga daya hambat mikrobialnya paling baik (50-55%) dibandingkan dengan VCO-BAL asal *L. plantarum*. Dari uraian ini, hipotesis kedua yang menyatakan: VCO hasil fermentasi dengan penambahan kultur BAL memiliki daya antibakteri yang lebih baik dibandingkan VCO hasil ekstraksi tanpa penambahan kultur BAL (kontrol) dapat diterima, dengan syarat bahwa kultur tersebut mampu memproduksi bakteriosin hidrofobik. Proses pembuktian keberadaan bakteriosin hidrofobik pada *L. casei* dan *L. plantarum* isolat mandai akan dilakukan sebagai lanjutan dari hasil diskusi ini.

KESIMPULAN

L. casei menghasilkan VCO-BAL dalam persentase volume secara signifikan lebih besar (34.5%) dibandingkan VCO-BAL asal *L. plantarum* asal isolat mandai (29.5%) dan blonde kelapa (25.3%). VCO-BAL asal *L. casei* memiliki berat jenis paling ringan (0.84 ± 0.04 g/mL). Rata-rata kadar air (0.03-0.05%), bilangan penyabunan (161.3-163.6), bilangan peroksida (0.53-0.86), bilangan asam lemak bebas (0.11-0.12%) dari VCO-BAL tidak berbeda signifikan dibandingkan VCO non BAL. Keistimewaan dari VCO-BAL tidak terletak dari karakteristik fisikokimianya. Tidak semua VCO yang diproduksi dengan penambahan kultur BAL memiliki daya antibakteri yang signifikan lebih baik dibandingkan VCO kontrol. VCO-BAL asal *L. Plantarum* isolat blonde kelapa tidak menunjukkan aktivitas

antibakteri yang signifikan berbeda dibandingkan dengan VCO non BAL. VCO-BAL asal *L. casei* secara signifikan memiliki zona penghambatan terbaik terhadap *E. coli*, yaitu 6.45 ± 0.50 mm (58.1% dari kontrol positif) dan *S. aureus*, yaitu 5.23 ± 0.40 mm (51.3% dari kontrol positif), dibandingkan kedua VCO-BAL asal *L. Plantarum*. Aktivitas antibakteri VCO-BAL diduga kuat dipengaruhi oleh bakteriosin hidrofobik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dirjen DIKTI dalam pembiayaan melalui skema Penelitian Dosen Muda periode 2006/2007 serta FMIPA Unmul yang telah memberikan fasilitas untuk berkarya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriouel H, Valdivia E, Gálvez A, Maqueda M. 2001. Influence of physico-chemical factors on the oligomerization and biological activity of bacteriocin AS-48. *Curr Microbiol* 42: 89–95. DOI: 10.1007/s0028403335.
- Ali A, Dwiyana Z. 2005. Bakteri Asam Laktat Potensi dan Peranan dalam Produk Pangan dan Kesehatan, Prosiding Pelatihan Bakteri Asam Laktat. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Anderssen EL, Diep DB, Nes IF, Eijsink VGH, Nissen-Meyer J. 1998. Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* C11: two new two-peptide bacteriocins, plantaricins EF and JK, and the induction factor plantaricin A. *Appl Environ Microbiol* 64: 2269-2272.
- APCC. 2009. APCC Standards for virgin coconut oil. <http://www.apccsec.org/document/VCNO.PDF>. [3 Oktober 2013].
- Carpenter CE, Smith JV, Broadbent JR. 2011. Efficacy of washing meat surfaces with 2% levulinic, acetic, or lactic acid for pathogen decontamination and residual growth inhibition. *Meat Sci* 88: 256–260. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.12.032.
- Che Man YB, Abdul Karim MIB, Teng CT. 1997. Extraction of coconut oil with *Lactobacillus plantarum* 1041 IAM. *J Am Oil Chem Soc* 74: 1115–1119. DOI: 10.1007/s11746-997-0033-0.
- Cotter PD, Hill C, Ross RP. 2005. Bacterial lantibiotics: strategies to improve therapeutic potential. *Curr Protein Peptide Sci* 6: 61-75. DOI: 10.2174/1389203053027584.
- Gong, HS, Meng XC, Wang H. 2010. Plantaricin MG active against gram-negative bacteria produced by *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 isolated from “Jiaoke”, a traditional fermented cream from China. *Food Control* 21: 89–96. DOI:10.1016/j.foodcont.2009.04.005.
- Jena S, Das H. 2006. Modeling of particle size distribution of sonicated coconut milk emulsion: Effect of emulsifiers and sonication time. *Food Res Int* 39: 606–611. DOI: 10.1016/j.foodres.2005.12.005.
- Jirapeangtong K, Siriwatanayothin S, Chiewchan N, 2008. Effect of coconut sugar and stabilizing agents on stability

- and apparent viscosity of high-fat coconut milk. *J Food Eng* 87: 422–427. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2008.01.001.
- Kubo I, Fujita KI, Kubo A, Nihei KI, Ogura T. 2004. Antibacterial activity of coriander volatile compounds against *Salmonella choleraesuis*. *J Agric Food Chem* 52: 3329–3332. DOI: 10.1021/jf0354186.
- Lacombe A, Wua VCH, Tyler S, Edwards K. 2010. Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Staphylococcus aureus* O157:H7. *Int J Food Microbiol* 139: 102–107. DOI: 10.4103/0973-1296.99286.
- Mansor TST, Che Man YB, Shuhaimi M, Abdul AMJ, Ku Nurul FKM. 2012. Physicochemical properties of virgin coconut oil extracted from different processing methods. *Int Food Res* 19: 837-845.
- Marina AM, Che Man YB, Nazimah SAH, Amin I. 2009. Chemical properties of virgin coconut oil. *J Am Oil Chem Soc* 86: 301–307. DOI: 10.1007/s11746-009-1351-1.
- Murtius WS. 2008. Pemanfaatan Blondo Sebagai Starter dalam Pembuatan Minuman Probiotik. [Tesis]. Program Pasca Sarjana Universitas Andalas.
- Nour AH, Mohammed FS, Yunus RM, Arman A. 2009. Demulsification of virgin coconut oil by centrifugation method: a feasibility study. *Int J Chem Technol* 1: 59-64. DOI: 10.3923/ijct.2009.59.64.
- Patrignani F, Iucci L, Belletti N, Gardini F, Guerzoni ME, Lanciotti R. 2008. Effects of sub-lethal concentrations of hexanal and 2-(E)-hexenal on membrane fatty acid composition and volatile compounds of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus*. *Int J Food Microbiol* 123: 1–8. DOI: 10.1016/j.jfoodmicro.2007.09.009.
- Petrova P, Petrov K, Stoyancheva G. 2013. Starch modifying enzymes of lactic acid bacteria—structures, properties, and applications. *Starch/Stärke* 65: 34–47. DOI: 10.1002/star.201200192.
- Raghavendra SN, Raghavarao, KSMS. 2010. Effect of different treatments for the destabilization of coconut milk emulsion. *J Food Eng* 97: 341–347. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2009.10.027.
- Raghavendra SN, Raghavarao KSMS. 2011. Aqueous extraction and enzymatic destabilization of coconut milk emulsions. *J Am Oil Chem Soc* 88: 481–487. DOI: 10.1007/s11746-010-1695-6.
- Reddy G, Altaf MD, Naveena BJ, Venkateshwar M, Kumar EV. 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation - A review. *Biotechnol Adv* 26: 22–34. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2007.07.004.
- Risoen PA, Johnsborg O, Diep DB, Hamoen L, Venema G, Nes IF. 2001. Regulation of bacteriocin production in *Lactobacillus plantarum* depends on a conserved promoter arrangement with consensus binding sequence. *Mol Genet Genomics* 265: 198-206. DOI: 10.1007/s004380000397.
- Rodriguez-Vaquero MJ, Fernández PAA, De Nadra MCM. 2011. Effect of phenolic compound mixtures on the viability of *Listeria monocytogenes* in meat model. *Food Technol Biotechnol* 49: 83–88.
- Sanchez-Barrena, MJ, Martinez-Ripoll M, Galvez A, Valdivia E, Maqueda M, Cruz V, Albert A. 2003. Structure of bacteriocin as-48: from soluble state to membrane bound state. *J Mol Biol* 334: 541–549. DOI: 10.1016/j.jmb.2003.09.060.
- Santos JER, Villarino BJ, Zosa AR, Dayrit FM. 2011. Analysis of volatile organic compounds in virgin coconut oil and their sensory attributes. *Philippine J Sci* 140: 161-171.
- Seneviratne KN, Hapuarachchi CD, Ekanayake S. 2009. Comparison of the phenolic-dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot conditions. *J Food Chem* 114: 1444–1449. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.038.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1996. Analisis Bahan Makanan dan Pertanian. Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Suhardiman P. 2000. Bertanam Kelapa Hibrida. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Surono IS. 2004. Probiotik: Susu Fermentasi dan Kesehatan. YAPMMI, Jakarta.
- Talamond P, Desseaux V, Moreau Y, Santimone M, Marchis-Mouren G. 2002. Isolation, characterization and inhibition by acarbose of the α -amylase from *Lactobacillus fermentum*: comparison with *Lb. manihotivorans* and *Lb. plantarum* amylases. *Comp Biochem Physiol B* 133: 351–360. DOI: 10.1016/S1096-4959(02)00157-4.
- Tangsuphoom N, Coupland JN. 2009. Effect of thermal treatments on the properties of coconut milk emulsions prepared with surface-active stabilizers. *Food Hydrocolloid* 23: 1792–1800.
- Tansakul A, Chaisawang P. 2006. Thermo physical properties of coconut milk. *J Food Eng* 73: 276–280. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.12.001
- Tsapieva A, Duplik N, Suvorov A. 2011. Structure of plantaricin locus of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3. *Beneficial Microbes* 2: 255-261. DOI: 10.3920/BM2011.0030.
- Villarino BJ, Dy LM, Concepcion M, Lizada C. 2007. Descriptive sensory evaluation of virgin coconut oil and refined, bleached and deodorized coconut oil. *LWT-Food Sci Technol* 40: 193–199. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.11.007.
- Zhao H, Sood R, Jutila A, Bose S, Fimland G, Nissen-Meyer J, Kinnunen PKJ. 2006. Interaction of the antimicrobial peptide pheromone Plantaricin A with model membranes: Implications for a novel mechanism of action. *Biochim Biophys Acta* 1758: 1461–1474. DOI: 10.1016/j.bbamem.2006.03.037.