

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMPLEKS KITOSAN-MONOSAKARIDA TERHADAP PATOGEN DALAM SURIMI IKAN GABUS SEBAGAI MODEL MATRIKS PANGAN

Shanti Dwita Lestari\*, Ace Baehaki, Reny Meliza

Universitas Sriwijaya, Jalan Raya Palembang Prabumulih Km. 32 Ogan Ilir, Sumatera Selatan, Indonesia

\*Korespondensi: shantidwita\_thi@unsri.ac.id

Diterima: 21 Januari 2019 /Disetujui: 1 April 2019

**Cara sitasi:** Lestari SD, Baehaki A, Meliza R. 2019. Aktivitas antibakteri kompleks kitosan-monosakarida terhadap patogen dalam surimi ikan gabus sebagai model matriks pangan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(1): 80-88.

### Abstrak

Senyawa kompleks yang terbentuk antara kitosan dengan gugus gula akibat proses pemanasan yang dikenal sebagai produk reaksi Maillard (PRM) diketahui memiliki sifat antibakteri dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antibakteri yang berasal dari senyawa kompleks kitosan monosakarida terhadap *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* dan *Vibrio cholera* dalam matriks pangan berupa surimi ikan gabus. Analisis dilakukan terhadap intensitas warna PRM yang terbentuk melalui reaksi kitosan dengan glukosa, galaktosa dan fruktosa serta aktivitas antibakteri masing-masing PRM secara *in vitro* maupun dalam matriks pangan yang masing-masing dilakukan menggunakan metode difusi cakram dan hitungan cawan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kompleks kitosan glukosa memiliki intensitas warna tertinggi dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang 420 nm yaitu 0,248. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa kompleks kitosan glukosa memiliki daya hambat terbesar terhadap ketiga bakteri uji. Kompleks kitosan galaktosa memiliki daya hambat terbaik terhadap bakteri *B. subtilis* dan *L. monocytogenes* dengan penurunan jumlah bakteri masing-masing 0,63 dan 2,13 log CFU/mL dibandingkan kontrol, sedangkan aktivitas penghambatan terhadap *V. cholera* lebih rendah dibandingkan kontrol. Penambahan kitosan serta kompleks kitosan monosakarida pada matriks pangan secara umum menurunkan jumlah mikroba total (TPC) yaitu 1,53 log CFU/mL. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri menunjukkan hasil yang konsisten baik secara *in vitro* maupun dalam matriks pangan.

Kata kunci: antimikroba, *in vitro*, kitosan-monosakarida, produk reaksi Maillard

### *Antibacterial Effects of Chitosan Monosaccharides Complex on Pathogens in Snakehead Fish Surimi as Food Matrix Model*

#### Abstract

The complex formed between chitosan and sugar as a result of heating process which induces the Maillard reaction is known to have antibacterial and antioxidant properties. This study aims to compare the antibacterial activity of chitosan monosaccharide complexes against *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* and *Vibrio cholera* in snakehead fish surimi as the food matrix model. The analysis was conducted on the color intensity of the Maillard Reaction Products (MRPs) which was formed through the reaction of chitosan with glucose, galactose and fructose. The antibacterial activity of each MRPs was studied both *in vitro* and in the food matrix using disc diffusion and standard plate count method respectively. The results showed that the chitosan galactose complex had the highest color intensity with absorbance values at 420 nm of 0.248. *In vitro* tests result showed that the chitosan glucose complex had the greatest inhibition on all three test bacteria. Whereas, when MRPs was applied in the food matrix of snakehead fish surimi, the galactose chitosan complex showed the best inhibitory effect against *B. subtilis* and *L. monocytogenes* with a decrease in the number of bacteria of 0.63 and 2.13 log CFU/mL respectively compared to the control. On the other hand, the inhibitory activity of *V. cholera* in the food matrix was effectively performed by the glucose chitosan complex with the total bacterial count of 2.25 log CFU/mL 1 lower than the control. The addition of chitosan and chitosan monosaccharide complex to the food matrix generally reduced the total microbial count (TPC) by 1.53 log CFU/mL. This result confirms that the antibacterial activity of MRPs is consistent both *in vitro* and in the food matrix.

Keywords: antimicrobial, *in vitro*, Maillard reaction products

## PENDAHULUAN

Kitin merupakan komponen utama dari cangkang krustasea dapat dideasetilasi menghasilkan suatu polimer hidrofilik bermuatan positif yang dikenal sebagai kitosan (López-León *et al.* 2005). Aktivitas antimikroba senyawa kitosan umumnya terkait dengan interaksi ioniknya terhadap komponen bermuatan negatif yang terdapat pada dinding sel bakteri. Aktivitas tersebut dipengaruhi oleh karakteristik intrinsik kitosan seperti berat molekul dan derajat deasetilasi serta karakteristik ekstrinsik seperti pH, suhu dan keberadaan senyawa lain (Hu dan Gazle 2018). Modifikasi kitosan acapkali diperlukan untuk mengubah karakteristik intrinsik kitosan guna meningkatkan efektivitas antibakteri dalam sistem pangan tertentu. Huang dan Chen (1997) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa pengawetan hasil panen jamur dengan kompleks kitosan glukosa sebagai *coating* terbukti efektif melindungi produk dari degradasi oleh bakteri, dibandingkan pelapisan dengan kitosan atau glukosa saja. Hal ini dipengaruhi oleh pembentukan produk reaksi Maillard yang berkontribusi pada peningkatan efektivitas sifat antibakteri. Reaksi Maillard disebut juga reaksi pencoklatan non enzimatis adalah reaksi antara gugus amino (kitosan) dan gugus karbonil gula pereduksi (monosakarida). Produk reaksi Maillard yang dihasilkan dari pemanasan kitosan dengan glukosa menunjukkan aktivitas antibakteri lebih tinggi daripada kitosan atau glukosa saja (Kanatt *et al.* 2008).

Aktivitas antibakteri kitosan serta modifikasinya telah banyak dibuktikan dengan metode *in vitro*, namun hasil tersebut belum dibuktikan secara *in situ* pada sistem pangan yang kompleks. Rhoades dan Roller (2000) menyatakan bahwa kitosan memiliki potensi sebagai pengawet makanan, namun matriks pangan memainkan peran penting terhadap efek antibakteri. Matriks pangan didefinisikan sebagai kumpulan komponen organik yang dikenal sebagai gizi yang terkandung di dalam suatu bahan pangan. Komponen organik tersebut dapat mengakibatkan perubahan efektivitas antibakteri pada kitosan dan modifikasinya, baik peningkatan maupun penurunan pada aktivitasnya.

Berdasarkan latar belakang di atas, penting dilakukan uji aktivitas antibakteri pada kompleks kitosan-monosakarida pada matriks pangan surimi ikan gabus untuk membandingkan keefektifan senyawa intermediet hasil reaksi Maillard tersebut dalam melindungi pangan dari kerusakan secara *in vitro* dan *in situ* (dalam matriks pangan). Penelitian ini juga bertujuan menentukan kompleks kitosan-monosakarida yang paling efektif dalam menghambat mikroba uji yang meliputi *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* dan *Vibrio cholerae*. Penggunaan ketiga jenis bakteri tersebut bertujuan untuk membandingkan penghambatan kompleks kitosan terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi ikan gabus segar yang diperoleh dari pasar Indralaya, Ogan Ilir, Chitosan dari cangkang udang DD  $\geq$  75% (Sigma Aldrich), asam asetat (Merck), NaOH (Merck), glukosa (Merck), galaktosa (Merck), fruktosa (Merck) dan akuades. Bakteri *Bacillus subtilis* berasal dari Laboratorium Biologi Laut Jurusan Kelautan Universitas Sriwijaya, *Listeria monocytogenes* dan *Vibrio cholerae* dari BPOM Palembang. Bahan analisis yaitu *butterfield's phosphate buffered*, *Nutrient Agar* (OXOID), *Nutrient Broth* (OXOID), *Plate Count Agar* (OXOID), *Tryptone Soy Agar* (OXOID), *Listeria agar Oxford formulation* (OXOID) dan *Thiosulfat Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (OXOID), asam borat (Merck), indikator *bromocresol hijau* (Merck), metil merah (Merck), alcohol (Merck), HCl (Merck), kloroform (Merck) dan natrium benzoate (Merck).

Alat yang digunakan meliputi autoklaf (Hirayama HL36AE, Japan), *hot plate stirrer* (B-one AHS 12A, China), pH meter (Hanna HI98107, USA) dan *meat grinder* (Panasonic MKMG1300). Alat untuk analisis adalah tabung reaksi, mikro pipet, cawan petri, inkubator (Mettler IN55, Germany), *colony counter* (*Today's Galaxy 230*, Taiwan), spektrofotometer (Shimadzu UV1800, Japan), *stomacher* (*Interscience Bag Mixer 400W*, USA).

## Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK), setiap perlakuan diulang sebanyak dua kali dengan analisis secara duplo. Penelitian dilakukan dalam kondisi heterogen berdasarkan waktu inkubasi yang terdiri dari lima waktu yang berbeda, di antaranya adalah 0 jam (tanpa inkubasi); 6; 12; 24 dan 48 jam. Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

C0 = tanpa kompleks kitosan-monosakarida

C1 = 1 % larutan kitosan (K)

C2 = 1 % kompleks kitosan glukosa (KKG)

C3 = 1 % kompleks kitosan galaktosa (KKGa)

C4 = 1 % kompleks kitosan fruktosa (KKF)

## Persiapan surimi ikan gabus

Ikan gabus segar disiangi, dicuci dan dipisahkan antara daging dengan tulangnya hingga menghasilkan *fillet* kemudian digiling dengan *fish mincer*. Daging ikan lumat yang diperoleh dicuci menggunakan air dingin dengan suhu 5°C dengan perbandingan air dan daging 3:1. Proses pencucian dilakukan sebanyak tiga kali dan dalam proses tersebut dilakukan pengadukan selama masing-masing 5 menit. Garam (NaCl) dengan konsentrasi 0,3% ditambahkan pada pencucian ketiga. Proses pemerasan dan pengepresan selanjutnya dilakukan untuk mengeluarkan sebagian besar air sehingga diperoleh surimi, metode pembuatan surimi mengacu pada (Park dan Lin 2005). Analisis kimia yang meliputi uji kadar protein, lemak, air, abu dan karbohidrat dilakukan terhadap surimi yang dihasilkan sesuai dengan prosedur dalam SNI 01-2891-1992 mengenai cara uji makanan dan minuman.

## Persiapan larutan stok kompleks kitosan-monosakarida

Pembuatan larutan kompleks kitosan-monosakarida 1% mengacu pada metode (Kanatt *et al.* 2007), dilakukan dengan melarutkan 1 g kitosan dan 1 g monosakarida (glukosa, galaktosa dan fruktosa) dalam asam asetat 1% hingga mencapai 100 mL. Larutan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit lalu ditambahkan 1 N NaOH hingga nilai pH menjadi 5,8. Larutan selanjutnya diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

lalu didinginkan. Intensitas warna produk reaksi Maillard pada setiap larutan kompleks kitosan-monosakarida diukur melalui nilai absorbansi pada panjang gelombang 420 nm.

## Analisis antibakteri kompleks kitosan-monosakarida secara *in vitro*

Pengujian antibakteri dilakukan berdasarkan metode Kirby-Bauer dengan modifikasi berupa penggantian media Mueller-Hinton agar menjadi media selektif sesuai dengan jenis patogen yang diujikan. Medium agar selektif untuk masing-masing jenis bakteri dituangkan ke dalam cawan petri dengan ketebalan 4-5 mm, dibiarkan mengeras, kemudian diinokulasikan dengan bakteri uji sebanyak 0,1 mL dengan kepadatan sel  $10^8$  CFU/mL (standar Mc Farland 0,5) menggunakan teknik *spread plate*. Kertas cakram berdiameter 6 mm yang telah dicelupkan ke dalam sampel uji (larutan kitosan, KKG, KKGa, KKF dengan konsentrasi masing-masing 1%) selama minimal 15 menit, diletakkan dengan cara ditekan hingga seluruh bagian permukaan kertas cakram menyentuh permukaan medium. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter daerah hambatan yang terbentuk di sekeliling kertas cakram diukur dengan menggunakan penggaris. Analisis antibakteri kompleks kitosan-monosakarida secara *in vitro* mengacu pada metode (Hudzicki 2009).

## Analisis antibakteri kompleks kitosan-monosakarida dalam matriks pangan surimi

Larutan stok kompleks kitosan-monosakarida dengan konsentrasi 2,5% sebanyak 20 mL dihomogenkan dengan 30 g surimi sehingga terbentuk konsentrasi 1% kompleks kitosan-monosakarida di dalam surimi. Konsentrasi 1% ini mengacu pada konsentrasi kompleks kitosan yang digunakan dalam uji *in vitro*. Inokulum bakteri dengan kepadatan sel  $\pm 10^6$  CFU/mL sebanyak 0,05 mL ditambahkan ke dalam surimi dan dihomogenkan kembali. Sampel yang telah diinokulasi ditimbang masing-masing 5 g dan ditempatkan dalam plastik *clip lock* lalu diinkubasi selama 48 jam. Analisis antibakteri kompleks kitosan-monosakarida

dalam matriks pangan surimi menggunakan metode modifikasi (Kanatt *et al.* 2007). Pengamatan dilakukan dengan interval 6 jam dan pada setiap pengamatan dilakukan analisis pertumbuhan bakteri total (TPC) serta bakteri spesifik (*Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* dan *Vibrio cholerae*).

### Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis keragaman menggunakan statistik parametrik dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menggunakan selang kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengukuran Intensitas Warna Produk Reaksi Maillard

Produk reaksi Maillard yang terbentuk dalam kompleks kitosan-monosakarida berasal dari interaksi antara senyawa asam amino bebas yang terdapat dalam kitosan dengan senyawa karbonil yang terkandung di dalam gula pereduksi yaitu glukosa, galaktosa dan fruktosa dengan bantuan pemanasan. Hasil pengukuran intensitas warna produk Maillard dapat dilihat pada *Figure 1*.

Nilai absorbansi terendah dihasilkan oleh perlakuan C1 yaitu 0,052 dan nilai absorbansi tertinggi adalah C3 yaitu 0,248. Terbentuknya warna coklat pada kompleks kitosan

menjadi indikasi terbentuknya produk reaksi Maillard. Intensitas warna kompleks kitosan galaktosa yang tinggi juga dilaporkan oleh Benjakul *et al.* (2005). Produk reaksi Maillard yang dihasilkan melalui reaksi protein dan galaktosa menunjukkan peningkatan intensitas warna coklat lebih besar dibandingkan kompleks protein dengan glukosa dan fruktosa.

### Analisis Antibakteri secara *In Vitro*

Pengujian antibakteri secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan media selektif untuk meminimalkan pertumbuhan bakteri lain. Diameter daerah hambatan (DDH) bakteri uji yang dihasilkan oleh setiap perlakuan dapat dilihat pada *Table 1*.

*Table 1* menunjukkan bahwa perbedaan monosakarida tidak memberikan pengaruh yang signifikan ( $\alpha=0,05$ ) terhadap DDH *B.subtilis*, *L. monocytogenes* maupun *V. cholerae*. Efek antibakteri yang ditunjukkan oleh kitosan dan kompleks kitosan-monosakarida dapat berasal dari asam asetat yang digunakan sebagai pelarut, sifat polikationik kitosan maupun produk reaksi Maillard yang dihasilkan. Efek tersebut dipengaruhi oleh interaksi kitosan dan karakteristik permukaan sel mikroba. Menurut Chung *et al.* (2003), mekanisme aktivitas antibakteri kitosan adalah interaksi ionik antara sisi kationik kitosan dengan sisi anionik protein dalam

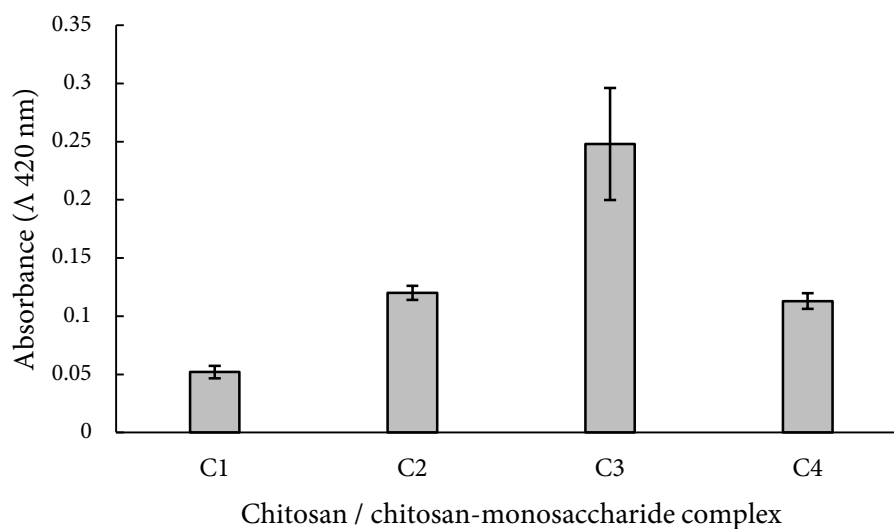


Figure 1 UV absorbance of Maillard Reaction Products at  $\lambda$  420 nm.

Table 1 Inhibition zone of chitosan / chitosan-monosaccharide complex against test bacteria

Species of bacteria	Inhibition zone (mm)			
	C1	C2	C3	C4
<i>B. subtilis</i>	11±1.41 <sup>a</sup>	11.75±1.26 <sup>a</sup>	10±1.29 <sup>a</sup>	10±0.58 <sup>a</sup>
<i>L. monocytogenes</i>	11.5±1 <sup>a</sup>	11.25±1.26 <sup>a</sup>	10±0.82 <sup>a</sup>	10.25±0.5 <sup>a</sup>
<i>V. cholerae</i>	9.75±0.5 <sup>a</sup>	12±1 <sup>a</sup>	10±1 <sup>a</sup>	9.25±0.96 <sup>a</sup>

fosfolipid sel mikroba yang menyebabkan perubahan sifat permeabilitas membran sel. Huang dan Chen (1997) menyimpulkan bahwa produk reaksi Maillard yang terbentuk dalam kompleks kitosan glukosa berkontribusi terhadap peningkatan efektivitas antibakteri pada produk jamur. Proses depolarisasi membran seluler sebagai akibat bertambahnya muatan positif yang berasal dari gugus asam amino dalam pH rendah mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan mikroba. Kong *et al.* (2010) menyatakan bahwa perubahan integritas dinding sel pada akhirnya dapat menyebabkan kematian bagi mikroba tersebut.

### Analisis Antibakteri dalam Matriks Surimi Ikan Gabus

Keberadaan bahan organik asing dapat menurunkan efektifitas zat antimikrobal dengan cara menginaktifkan senyawa antimikroba melalui pembentukan kompleks maupun endapan dan juga memberikan *barrier* yang mengganggu kontak antara bahan antimikrobal dan sel mikroorganisme (Afrianti 2010). Aktivitas antimikroba kitosan dan senyawa turunannya yang merupakan senyawa polikationik sangat dipengaruhi oleh komponen matriks makanan. Hasil analisis menunjukkan bahwa surimi ikan gabus yang digunakan dalam penelitian ini memiliki komposisi kimia yaitu: protein 16,01%, air 82%, abu 0,35%, lemak 0,47%, karbohidrat (*by difference*) 0,43%.

Pengaruh matriks makanan yang mengandung protein terhadap aktivitas antibakteri kitosan tergantung pada pH serta titik isoelektriknya, jika pH media lebih rendah dari titik isoelektrik protein maka kitosan masih memiliki aktivitas antibakteri yang baik, sebaliknya, jika nilai pH media meningkat hingga di atas titik isoelektrik protein, aktivitas antibakteri kitosan menjadi

terhambat. Protein bermuatan negatif akan menetralkan muatan positif pada kitosan sehingga tidak bisa lagi berinteraksi dengan permukaan sel bakteri yang bermuatan negatif (Devlieghere *et al.* 2004). Keberadaan lemak dalam matriks pangan dapat memengaruhi aktivitas antimikroba. Kitosan diketahui tetap menunjukkan aktivitas antibakteri meskipun terjadi pembentukan kompleks dengan lemak dalam matriks pangan. Fenomena ini dapat dijelaskan oleh fakta bahwa kitosan diposisikan di luar emulsi ketika terjadi interaksi antara gugus positif kitosan dan asam lemak bebas bermuatan negatif (Jumaa dan Muller 1999).

### Pengaruh Perlakuan terhadap Pertumbuhan *Bacillus subtilis* dalam Matriks Surimi

*B. subtilis* merupakan bakteri Gram positif pembentuk spora. Respon osmotik *B. subtilis* terhadap peningkatan ion positif di dalam membrane sitoplasma dapat dilakukan dengan mensintesis prolin dan mengakumulasi senyawa *zwitterion* organik seperti glisin, betaine, karnitin, kolin, prolin maupun ektoin yang merupakan senyawa osmoprotektan dengan kelarutan tinggi. Senyawa osmoprotektan tersebut dapat disintesis maupun ditransportasikan dari luar sel dan menjadi pelindung *B. subtilis* dalam kondisi lingkungan yang buruk (Lopez *et al.* 2006). Kurva pertumbuhan *B. subtilis* pada surimi ikan gabus dengan adanya penambahan kitosan dan kompleks kitosan-monosakarida disajikan dalam *Figure 2*.

Surimi dengan perlakuan penambahan larutan kitosan (C1) dan kompleks kitosan-monosakarida (C2, C3 dan C4) memiliki jumlah total bakteri (TPC) yang lebih rendah dibandingkan surimi dengan perlakuan C0. Hal tersebut menunjukkan adanya aktivitas penghambatan bakteri oleh larutan kitosan dan senyawa kompleks kitosan-monosakarida.

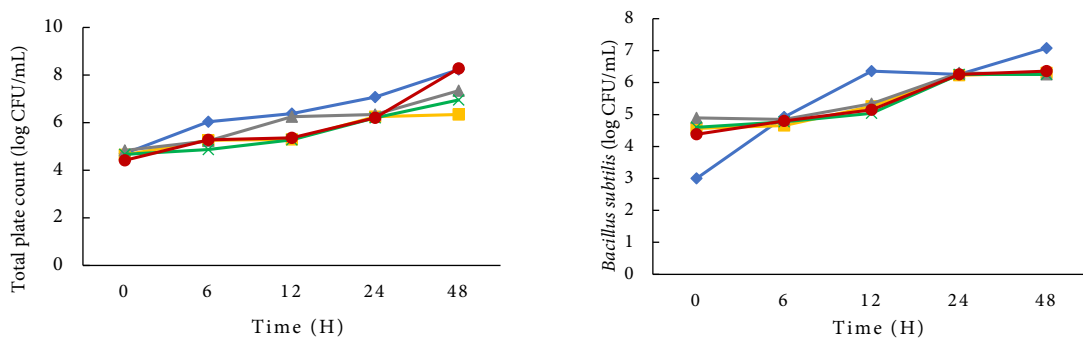


Figure 2 Effect of chitosan and chitosan monosaccharide complex on total plate count and *B. subtilis* growth in snakehead fish surimi surimi, —◆— C0 (no chitosan); —■— C1 (chitosan 1%); —▲— C2 (chitosan glucose complex 1%); —◆— C3 (chitosan galactose complex 1%); —●— C4 (chitosan fructose complex 1%).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa nilai TPC perlakuan C0 berbeda nyata ( $\alpha < 0,05$ ) dengan perlakuan lainnya. Perlakuan C3, yaitu penambahan kompleks kitosan galaktosa, memberikan nilai rata-rata TPC yang paling rendah dan nilai tersebut berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Jumlah *B. subtilis* terendah dalam sampel surimi juga ditemukan pada perlakuan C3, namun nilai tersebut berbeda tidak nyata dengan perlakuan lainnya.

Secara keseluruhan, surimi yang ditambahkan dengan larutan kitosan dan kompleks kitosan-monosakarida dengan konsentrasi yang sama yaitu 1% memiliki nilai TPC 0 hingga 1,62 log CFU/mL lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, sedangkan untuk *B. subtilis*, setiap jenis perlakuan memberikan penghambatan pertumbuhan dengan jumlah rata-rata bakteri 0,57 hingga 0,63 log CFU/mL lebih rendah dibandingkan kontrol. Menurut Mahae *et al.* (2011) efek penghambatan kompleks kitosan-gula terhadap bakteri uji tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi kompleks kitosan-gula 5% mampu menurunkan jumlah *Bacillus cereus* sebanyak 2-3 log CFU/mL. Peningkatan konsentrasi kompleks kitosan hingga 15% memberikan efek bakterisidal terhadap bakteri tersebut.

Ketahanan *B. subtilis* terhadap kitosan atau kompleks kitosan-monosakarida relatif rendah, penurunan nilai log diduga disebabkan oleh keberadaan senyawa fosfolipid anionik dan juga senyawa lipid lain yang muncul pada

kondisi stress yang dapat mempengaruhi struktur membran serta aktivitas enzim yang terlibat dalam proses osmosensing dan modifikasi fungsi protein (Lopez *et al.* 2006).

### Pengaruh Perlakuan terhadap Pertumbuhan *L. monocytogenes* dalam Matriks Surimi

*Listeria monocytogenes* merupakan bakteri Gram positif, tidak membentuk spora dengan bentuk basil yang sering mengkontaminasi produk perikanan (Jami *et al.* 2014). Salah satu penanda taksonomi (*taxonomic marker*) bagi *L. monocytogenes* adalah proporsi struktur hidrofilik dan hidrofobik pada asam lipoteikoat yang merupakan polimer ampifilik pada membrane sitoplasma. Asam ini mengandung rantai poligliserofosfat hidrofilik yang berikatan kovalen dengan gliko atau fosfatidilglikolipid yang secara struktural bersifat analog dengan asam lipoteikoat dari *Bacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* dan *Lactobacillus* (Rocourt dan Buchrieser 2007). Nilai TPC dan respon pertumbuhan *L. monocytogenes* pada surimi ikan gabus dengan adanya penambahan kitosan dan kompleks kitosan-monosakarida disajikan dalam Figure 3.

Penambahan kitosan maupun kompleks kitosan-monosakarida dapat menurunkan jumlah bakteri total pada surimi. Perlakuan C3 memberikan nilai rata-rata TPC yang paling rendah dan nilai tersebut berbeda nyata ( $\alpha < 0,05$ ) dengan perlakuan C1, C2 dan kontrol.

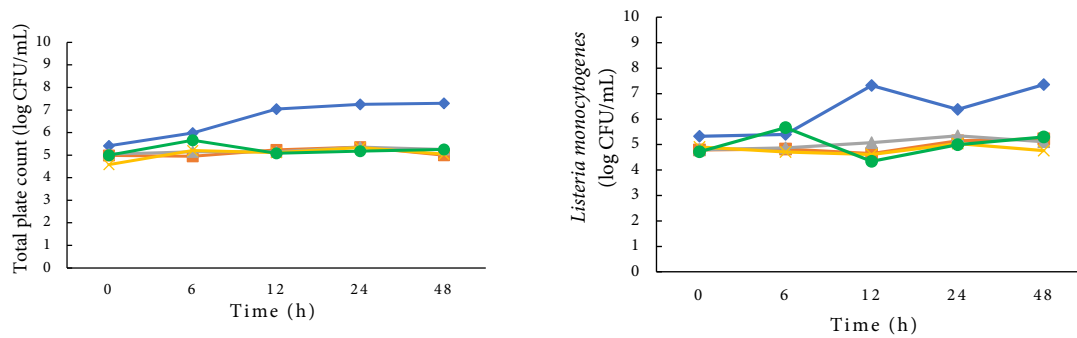


Figure 3 Effect of chitosan and chitosan monosaccharide complex on total plate count and *L. monocytogenes* growth in snakehead fish surimi, —◆— C0 (no chitosan); —■— C1 (chitosan 1%); —▲— C2 (chitosan glucose complex 1%); —♦— C3 (chitosan galactose complex 1%); —●— C4 (chitosan fructose complex 1%).

Rata-rata jumlah *Listeria monocytogenes* terendah juga dihasilkan oleh perlakuan C3 dengan nilai 4,83 log CFU/mL. Hasil uji lanjut BNJ menunjukkan nilai tersebut berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hasil rata-rata TPC pada sampel surimi yang diberikan perlakuan kitosan maupun komplek kitosan-monosakarida memiliki nilai 1,69–1,88 log CFU/mL lebih rendah dibandingkan kontrol, sedangkan untuk total *L. monocytogenes*, sampel yang diberi perlakuan memiliki jumlah bakteri 1,74–2,13 log CFU/mL lebih rendah dibandingkan kontrol. Hasil tersebut sejalan dengan hasil penelitian Takahashi *et al.* (2011) bahwa kandungan 14% kitosan dalam senyawa preservatif alami yaitu *San Keeper K-3* 10.000 ppm mampu menurunkan total *L. monocytogenes* pada hari ke-3 dalam produk daging tuna giling dan telur salmon masing-masing yaitu 3,1 dan 1,97 log CFU/mL.

### Pengaruh Perlakuan terhadap Pertumbuhan *V. cholerae* dalam Matriks Surimi

*V. cholerae* merupakan salah satu spesies dalam genus *Vibrio*. Sensitifitas setiap spesies dalam genus *Vibrio* terhadap mikropartikel kitosan bervariasi dan dipengaruhi oleh komposisi polisakarida kapsul, LPS serta *protein outer membrane* yang berkontribusi terhadap perubahan muatan permukaan, hidrofobisitas, sifat pengikatan dan lain sebagainya (Fang *et al.* 2015). Efek penambahan kitosan dan komplek kitosan-

monosakarida terhadap total bakteri serta respon pertumbuhan *V. cholerae* pada surimi ikan gabus sebagai model matriks pangan disajikan dalam *Figure 4*.

Perlakuan C2 memberikan nilai rata-rata TPC terendah yaitu 5,11 log CFU/mL. Berdasarkan hasil uji lanjut BNJ pada taraf 5% perlakuan C2 berbeda nyata terhadap perlakuan C1, C3 dan C0 namun berbeda tidak nyata dengan perlakuan C4. Perlakuan yang sama juga memberikan rata-rata total *Vibrio cholerae* terendah yaitu dengan nilai 4,39 log CFU/mL. Nilai tersebut berbeda nyata dengan keempat perlakuan lainnya. Hasil rata-rata total *V. cholerae* pada sampel surimi yang diberikan perlakuan kitosan maupun komplek kitosan-monosakarida secara umum memiliki nilai 1,8 hingga 2,25 log CFU/mL lebih rendah dibandingkan kontrol. Sedangkan untuk nilai rata-rata TPC, penurunan jumlah bakteri yang terjadi akibat perlakuan adalah 1,80-1,94 log CFU/mL. Menurut Darmadji dan Izumimoto (1994), kitosan 1% dapat mengurangi 1-2 log CFU/mL dari *Pseudomonas*, *Staphylococcus* dan jumlah total bakteri pada produk daging cincang.

Jika ditinjau kembali, efek antibakteri yang diberikan oleh komplek kitosan glukosa terhadap *V. cholerae* lebih baik dibandingkan dengan inhibisi yang ditunjukkan oleh komplek kitosan galaktosa terhadap *B. subtilis* dan *L. monocytogenes*. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri, dimana *V. cholerae* merupakan bakteri Gram negatif

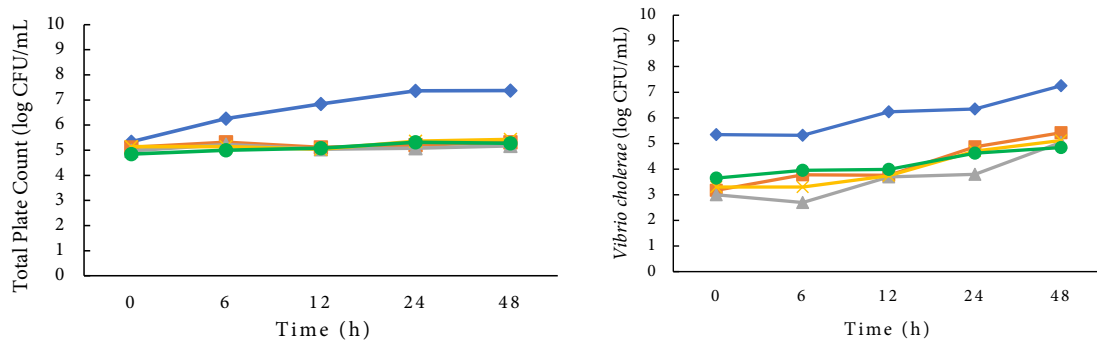


Figure 4 Effect of chitosan and chitosan monosaccharide complex on total plate count and *V. cholerae* growth in snakehead fish surimi, —◆— C0(no chitosan); —■— C1(chitosan 1%); —♦— C2 (chitosan glucose complex 1%); —▲— C3(chitosan galactose complex 1%); —●— C4 (chitosan fructose complex 1%).

sedangkan *B. subtilis* dan *L. monocytogenes* tergolong ke dalam Gram positif. Aktivitas antibakteri kitosan terhadap bakteri Gram negatif terkait dengan kemampuannya untuk mengikat dan melemahkan fungsi *barrier* pada *outer membrane* (Helander *et al.* 2001). Menurut Nikaido (1996), struktur polikationik kitosan dapat berinteraksi dengan senyawa-senyawa anionik seperti protein dan polisakarida pada permukaan membran sel bakteri Gram negatif.

Penghambatan pertumbuhan bakteri oleh kompleks kitosan-monosakarida diduga karena adanya senyawa produk reaksi Maillard (PRM) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Glukosa, galaktosa dan fruktosa merupakan gula pereduksi yang dapat bereaksi dengan gugus amina pada reaksi Maillard. Senyawa PRM tersebut adalah struktur HMF (5-hidroksi metil furfural) furfural dan maltol. Pengaruh penghambatan PRM tergantung pada jenis PRM dan bakteri yang digunakan. PRM tertentu dapat mempengaruhi kelarutan besi yang merupakan kofaktor enzim penting dalam metabolisme bakteri sehingga dapat mengakibatkan penurunan aktivitas metabolisme dan pengikatan nutrisi (Ambarsari dan Mochtar 2002).

## KESIMPULAN

Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan oleh kitosan maupun kompleks kitosan-monosakarida tidak terhambat oleh komponen nutrisi di dalam matriks pangan surimi dan

menunjukkan hasil yang sama baik dalam kondisi *in vitro* maupun *in situ* (dalam matriks pangan). Komplek kitosan-monosakarida lebih efektif dalam menghambat *V. cholera* dibandingkan *B. subtilis* dan *L. monocytogenes*. Perbedaan efektivitas setiap kompleks kitosan-monosakarida dalam menghambat bakteri uji terkait dengan jenis, jumlah dan karakteristik senyawa produk reaksi Maillard yang masih perlu dikaji lebih lanjut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sriwijaya yang telah mendanai riset ini melalui skema penelitian Hibah Bersaing dengan nomor kontrak 121/UN.9.3.1/LT/2014.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti LH. 2010. *Pengawet Makanan Alami dan Sintetis*. Bandung (ID): Alfabeta.
- Ambarsari L, Mochtar HM. 2002. Mekanisme penghambatan produk-produk reaksi Maillard. *Buletin Kimia*. 2: 19-23.
- Benjakul S, Lertittikul W, Bauer F. 2005. Antioxidant activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-sugar model system. *Food Chemistry*. 93(2):189-196.
- Chung YC, Wang HL, Chen YM, Li SL. 2003. Effect of abiotic factors on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens. *Bioresource Technology*. 88(3): 179-184.
- Darmadji P, Izumimoto M. 1994. Effect of



- chitosan in meat preservation. *Meat Science*. 38(2): 243-254.
- Devlieghere F, Vermeulen A, Debevere J. 2004. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*. 21: 703-714.
- Helander I, Nurmiaho-Lassila EL, Ahvenainen R, Rhoades J, Roller S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 71(2-3): 235-244.
- Hu Z, Ganzle MG. 2018. Challenges and opportunities related to the use of chitosan as a food preservative. *Journal of Applied Microbiology*.
- Huang JR, Chen RH. 1997. The bactericidal effects on chitosan glucose Maillard reaction products obtained for different reaction times and the preservative effects of chitosan for kamaboko. *Journal of Food Science*. 24: 458-468.
- Hudzicki J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. [www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3189](http://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3189)
- Jami M, Ghanbari M, Zunabovic M, Domig KJ, Kneifel. 2014. *Listeria monocytogenes* in aquatic food products—A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 13(5): 798-813.
- Jumaa M, Muller BW. 1999. Physicochemical properties of chitosan-lipid emulsions and their stability during the autoclaving process. *International Journal of Pharmaceutics*. 183:175-184.
- Kanatt SR, Chander R, Sharma A. 2008. Chitosan glucose complex-A novel food preservative. *Food Chemistry*. 106: 521-528.
- Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*. 144: 51-63.
- Lo'pez CS, Alice AF, Heras H, Rivas EA, Sa'nchez-Rivas C. 2006. Role of anionic phospholipids in the adaptation of *Bacillus subtilis* to high salinity. *Microbiology*. 152: 605-616.
- López-León T, Carvalho ELS, Seijo B, Ortega-Vinuesa JL, Bastos-González D. 2005. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles: electrokinetic and stability behavior. *Journal of Colloid and Interface Science*. 283: 344-351.
- Nikaido H. 1996. Outer membrane. Neidhardt FCZ (Editor) *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. Washington DC (USA): American Society for Microbiology.
- Park JW, Lin TMJ. 2005. Surimi: Manufacturing and Evaluation. Park JW (Editor) *Surimi and Surimi Seafood Second Edition*. Boca Raton (FL): CRC Press.
- Rhoades J, Roller S. 2000. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. *Applied and Environmental Microbiology*. 66: 80-86.
- Rocourt J, Buchrieser C. 2007. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy and identification. Elliot TR, Elmer HM (editor) *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*. Boca Raton (FL): CRC Press.
- Takahashi H, Kuramoto S, Miya S, Koiso H, Kuda T, Kimura B. 2011. Use of commercially available antimicrobial compounds for prevention of *Listeria monocytogenes* growth in ready-to-eat minced tuna and salmon roe during shelf life. *Journal of Food Protection*. 74(6): 994-998.