

Kesan suhu pemprosesan terhadap aktiviti antimikrob filem pembungkus boleh dimakan daripada rumpai laut dan minyak pati kayu manis (Effect of processing temperature on the antimicrobial activity of edible packaging films from seaweed and cinnamon essential oil)

Siah Watt Moey

Pengenalan

Minyak pati hasil daripada pengekstrakan tumbuh-tumbuhan diiktiraf sebagai selamat [*Generally Recognized As Safe GRAS*] untuk digunakan sebagai bahan aditif makanan. Kajian menggunakan minyak pati dalam makanan untuk menghalang atau melambatkan kerosakan disebabkan mikroflora juga telah giat dijalankan. Hasil kajian secara *in vitro* menunjukkan bahawa minyak pati sangat berkesan untuk merencat pertumbuhan mikroorganisma perosak makanan. Walau bagaimanapun, kesan yang sama di dalam produk makanan hanya tercapai apabila minyak pati dengan kepekatan yang tinggi digunakan. Keadaan ini berlaku kerana minyak pati akan terikat dengan komponen dalam makanan dan juga sifat antimikrobnya mungkin ternyahaktif. Alternatif terbaik untuk membolehkan minyak pati dapat berfungsi dengan baik dan berkesan adalah dengan mencampurkannya ke dalam filem pembungkus yang bertindak sebagai pembungkus aktif yang membawa kesan antimikrobial ke permukaan makanan.

Pelbagai jenis agen antimikrob boleh dimasukkan ke dalam larutan pembentuk filem termasuk produk semula jadi seperti ekstrak tumbuhan, enzim, bakteriosin dan asid organik. Pokok kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum* atau juga dipanggil *Cinnamomum verum*) daripada famili Lauraceae merupakan sejenis tumbuhan rempah-ratus yang mempunyai lebih daripada 2,000 spesies di dunia. Tanaman ini dipercayai berasal dari Sri Lanka dan Selatan India dan kini terdapat di seluruh dunia seperti Sri Lanka, China, India dan Vietnam. Pokok kayu manis juga ditanam di Malaysia dengan anggaran keluasan tanaman sekitar 50 – 80 hektar. *Cinnamomum zeylanicum* ialah rempah beraroma yang mempunyai aplikasi yang luas dalam industri makanan, minuman, kosmetik dan farmaseutikal. Minyak pati meruap ini terdapat pada bahagian yang berlainan seperti daun, kulit kayu, buah-buahan, akar, bunga dan tunas. Komposisi kimia minyak pati telah dikenal pasti termasuklah sinamaldehyd, eugenol dan kapor. Ciri-ciri antimikrob dan antipengoksida minyak pati kayu manis adalah disebabkan oleh sebatian fenolik yang merosakkan sel mikroorganisma serta melambatkan pertumbuhannya dan mampu meneutralkan

radikal bebas. Walaupun minyak pati kayu manis mempunyai banyak kebaikan dan telah digunakan dalam formulasi makanan, namun penggunaannya dalam filem boleh dimakan masih menjadi cabaran kerana sifat pemeruapan boleh menjejaskan fungsinya. Dalam kajian terdahulu, bahan pembungkus boleh dimakan daripada rumpai laut telah berjaya dibangunkan dan hasilnya juga telah diterbitkan. Usaha lanjut dijalankan untuk membangunkan filem boleh dimakan bersifat aktif antimikrob dan kajian ini bertujuan untuk menilai kesan suhu pemprosesan filem boleh dimakan terhadap aktiviti antimikrob daripada rumpai laut dan minyak pati kayu manis.

Penentuan kesan suhu pemprosesan terhadap aktiviti antimikrob

Dalam kajian ini, jenis rumpai laut merah iaitu *Kappaphycus alvarezii* telah digunakan untuk pembangunan filem aktif boleh dimakan. Rumpai laut adalah sumber asli yang mapan serta berpotensi, tetapi masih belum digunakan sepenuhnya. Penanaman rumpai laut telah berkembang pesat di Malaysia, terutama di Sabah yang merupakan salah satu pengeluar rumpai laut di dunia. Rumpai laut dalam bentuk kering diperolehi dari Semporna, Sabah. Rumpai laut dibasuh bawah air paip yang mengalir untuk membuang kekotoran dan garam sebelum direndam. Rumpai laut bersih direndam dan seterusnya dijadikan pes rumpai laut. Filem rumpai laut diproses mengikut langkah-langkah seperti yang diterangkan dalam paten yang telah difailkan bertajuk *Biodegradable Film From Seaweed And Process For Producing The Same (PI2013003883)*. Untuk menghasilkan filem aktif, sebanyak 3% minyak pati kayu manis (MPKM) *Cinnamomum zeylanicum* yang diperolehi dari MARDI Kuala Linggi dimasukkan ke dalam formulasi larutan pembentuk filem (LPF). MPKM dimasukkan ke dalam LPF pada beberapa peringkat pemprosesan seperti dalam *Jadual 1*. Filem disediakan mengikut kaedah tuangan dan dikeringkan di dalam ketuhar pengering pada suhu 48 ± 2 °C. Filem yang terhasil diuji untuk aktiviti antimikrobnya.

Penentuan aktiviti antimikrob filem

Aktiviti antimikrob filem aktif ditentukan melalui ujian resapan cakera. Mikroorganisma yang digunakan terdiri daripada dua jenis bakteria gram positif iaitu *Bacillus cereus* (ATCC 11778) dan *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), dua jenis bakteria gram negatif iaitu *Escherichia coli* (ATCC 11775) dan *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), kulat jenis *Aspergillus flavus* (ATCC 26946) dan yis *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763). Kesemua kultur bakteria diperolehi dari Makmal Mikrobiologi, Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, MARDI; manakala kultur kulat dan yis diperolehi dari Institut Penyelidikan Perubatan (IMR) Malaysia.

Jadual 1. Peringkat minyak pati kayu manis dimasukkan

Kod sampel filem	Keadaan pemprosesan
FAD	MPKM dihomogenkan dan dididih bersama LPF di atas plat pemanas selama tiga minit sambil dikacau dengan pengacau magnet.
FA80	MPKM dihomogenkan dengan LPF setelah LPF dibiarkan sejuk ke suhu 80 °C dalam keadaan suhu bilik.
FA70	MPKM dihomogenkan dengan LPF setelah LPF dibiarkan sejuk ke suhu 70 °C dalam keadaan suhu bilik.
FA60	MPKM dihomogenkan dengan LPF setelah LPF dibiarkan sejuk ke suhu 60 °C dalam keadaan suhu bilik.

Ujian resapan cakera dijalankan mengikut piawaian *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, (NCCLS) dengan sedikit pengubahsuaian. Agar Mueller-Hinton (MHA) dan agar Dekstrosa Sabouraud (SDA) digunakan sebagai medium pertumbuhan. Medium MHA dan SDA yang telah disterilkan dalam autoklaf dituang ke dalam piring petri dengan setiap satu sebanyak 16 mL secara aseptik di dalam kabinet *biohazard* dan dibiarkan mengeras.

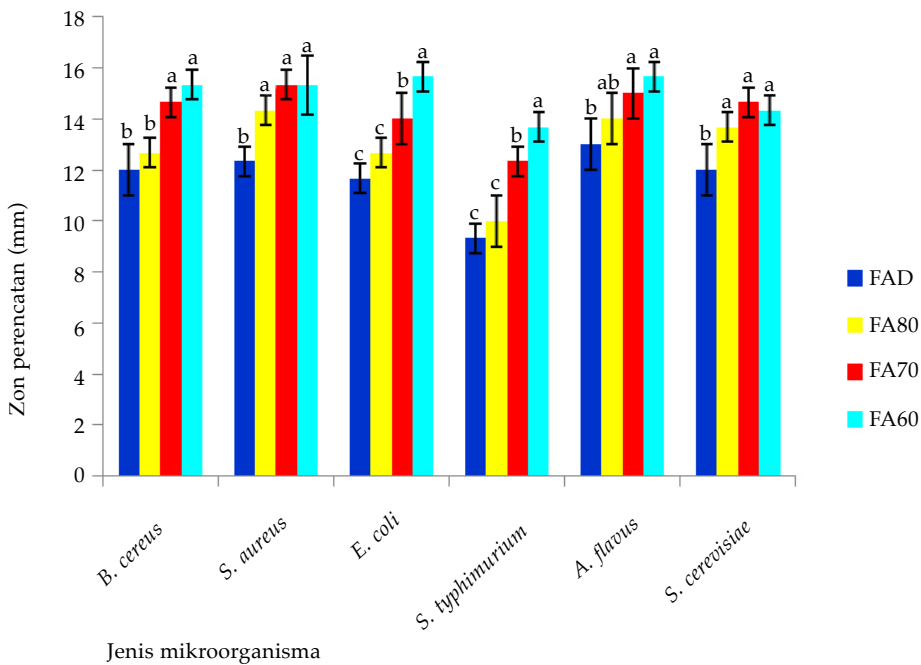
Untuk penyediaan medium agar lembut MHA dan SDA pula, kedua-dua medium dituang ke dalam botol *universal* masing-masing sebanyak 4 mL kemudian disterilkan di dalam autoklaf. Selepas disteril, agar lembut disimpan di dalam ketuhar bersuhu 50 °C untuk mengelakkannya daripada mengeras. Sebanyak 0.1 mL kultur mikroorganisma (10^6 cfu/mL) dimasukkan ke dalam agar lembut MHA untuk bakteria dan SDA untuk kulat dan yis. Agar lembut yang telah disebati dengan kultur mikroorganisma dituang ke atas piring petri masing-masing mengandungi MHA dan SDA yang telah mengeras. Piring petri dibiarkan selama lima minit supaya agar lembut mengeras.

Setiap piring dibahagikan kepada empat segmen. Selepas itu, empat keping cakera filem FAD, FA80, FA70 dan FA60 dengan diameter 6 mm dipindahkan ke atas permukaan medium berinokulat secara teliti dengan menggunakan *forcep* steril. Setiap cakera filem dipastikan terletak di bahagian tengah setiap segmen. Selepas dibiarkan sekitar 20 minit, piring petri diterbalikkan dan dieram pada suhu $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ selama 24 jam ± 2 jam bagi bakteria dan pada suhu $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ selama 48 jam ± 2 jam untuk kulat dan yis. Piring diperiksa untuk melihat kewujudan zon cerah dan dikenali sebagai zon perencatan. Hanya zon perencatan dengan diameter melebihi 7 mm diambil kira sebagai hasil positif.

Kesan suhu pemprosesan terhadap aktiviti antimikrobial filem aktif

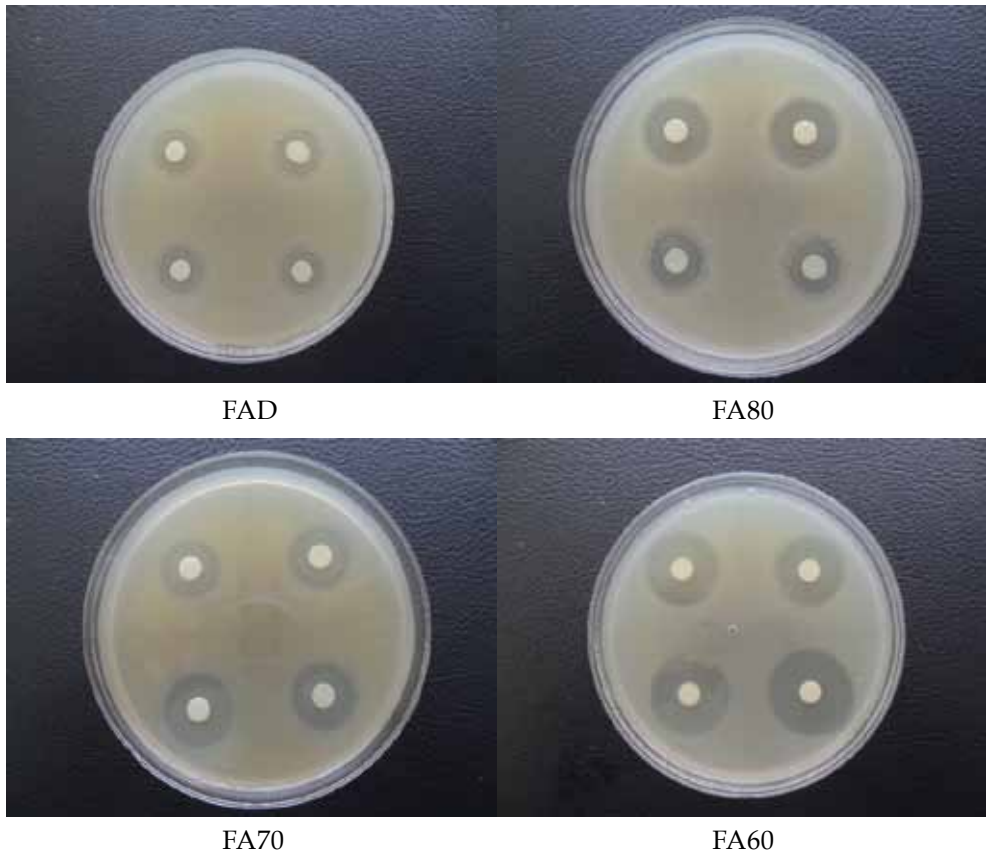
Komponen bahan aktif utama dalam MPKM yang mempunyai aktiviti antimikrob ialah sinamaldehyd dan eugenol kerana sebatian fenolik meruap ini mampu merosakkan sel-sel mikroorganisma dan meneutralkan radikal bebas. Bahan aktif tersebut sensitif terhadap suhu dan meruap walaupun berada dalam keadaan suhu bilik. Apabila sebatian ini meruap, keberkesanannya sebagai agen antimikrob juga terjejas. Maka suhu larutan pembentuk filem ketika MPKM dimasukkan ke dalamnya akan mempengaruhi keaktifan sebatian antimikrob dalam filem yang dihasilkan.

Keputusan kajian kesan suhu terhadap aktiviti antimikrob filem untuk enam jenis mikroorganisma ditunjukkan seperti dalam *Rajah 1* dan *Gambar 1*. Berdasarkan keputusan yang diperolehi, filem aktif yang dihasilkan dengan mendidihkan MPKM bersama LPF (sampel FAD) memberikan aktiviti antimikrob yang paling rendah terhadap keenam-enam jenis mikroorganisma yang dikaji. Diameter zon perencatan yang terhasil adalah paling kecil iaitu 9.33 untuk *S. typhimurium* dan 13.00 mm untuk *A. flavus*. Apabila suhu pencampuran diturunkan kepada 80 °C (sampel FA80), peningkatan secara bererti ($p < 0.05$) untuk zon perencatan *S. aureus* dan *S. cerevisiae*. Peningkatan zon perencatan secara bererti ($p < 0.05$) berlaku



Nilai min ($n = 4$) dengan abjad yang berbeza (a – c) menunjukkan perbezaan bererti ($p < 0.05$)

Rajah 1. Kesan suhu pemprosesan terhadap aktiviti antimikrobial filem aktif 3% MPKM



Gambar 1. Pembentukan zon perencatan pada suhu pemprosesan yang berlainan

apabila MPKM dicampurkan kepada LPF pada suhu 70 °C (sampel FA70) berbanding dengan sampel FAD. Berbanding dengan suhu 70 °C, zon perencatan meningkat secara bererti untuk *S. typhimurium* dan *E. coli* sahaja apabila MPKM dicampurkan pada suhu 60 °C dan tiada perbezaan untuk jenis mikroorganisma lain untuk filem yang dihasilkan pada 60 °C dan 70 °C.

Hasil kajian ini menunjukkan bahawa suhu larutan pembentuk filem ketika MPKM dicampurkan yang paling baik adalah pada suhu 60 °C kerana menunjukkan kesan perencatan yang paling baik. Keputusan menunjukkan diameter zon perencatan pada suhu 70 °C dan 60 °C tidak mempunyai perbezaan bererti ($p < 0.05$) untuk semua jenis mikroorganisma yang dikaji kecuali *S. typhimurium* dan *E. coli*. Secara umum, suhu 60 °C menunjukkan filem yang dikaji memberikan diameter zon perencatan yang paling besar, namun pada ketika ini, larutan pembentuk filem menjadi terlalu likat dan menyebabkan kesukaran untuk menyebarkan LPF dengan baik semasa proses penuangan di dalam acuan. Keadaan ini menyebabkan filem yang dihasilkan mempunyai permukaan yang kurang sekata

dan ketebalan yang berbeza-beza. Maka, boleh disimpulkan bahawa suhu yang paling ideal untuk dicampurkan MPKM adalah pada suhu 70 °C. Menurut data hasil kajian saintis lain, suhu pemeruapan sinamaldehyd iaitu sebatian organik utama dalam MPKM adalah pada 71 °C. Keputusan daripada kajian ini yang mendapati bahawa suhu pencampuran MPKM yang dapat memberikan zon perencatan yang paling besar adalah pada suhu 70 °C atau 60 °C adalah menepati kenyataan tersebut. Apabila MPKM dicampurkan ketika LPF bersuhu 80 °C (sampel FA80) atau dididih bersama (sampel FAD), diameter zon perencatan adalah lebih kecil kerana suhu tersebut telah melangkaui suhu pemeruapan sinamaldehyd pada 71 °C dan menyebabkan kesan aktiviti antimikrobnya juga menurun. Hasil kajian saintis lain mendapati bahawa minyak pati mengandungi 85 – 99% sebatian meruap dan 1 – 15% adalah sebatian tidak meruap. Maka kaedah pemprosesan makanan yang mengandungi bahan ekstrak tumbuhan akan mempengaruhi kandungan akhir serta keberkesanannya. Proses pensterilan, pempasteuran dan pengeringan adalah antara proses yang boleh menjejaskan aktiviti ekstrak tumbuhan tersebut. Kajian sebelumnya menunjukkan bahawa pemprosesan terma menyebabkan penurunan kuantiti dan aktiviti antosianin dalam raspberi hitam dan beri biru.

Pelbagai faktor mempengaruhi aktiviti antimikrob untuk filem aktif, antaranya termasuklah sifat semula jadi minyak pati, jenis bakteria, ciri-ciri matriks yang membentuk filem, cara dan keadaan pemprosesan filem. Kajian terhadap filem aktif nanokomposit daripada beberapa jenis minyak pati tumbuhan mendapati bahawa aktiviti antimikrob filem adalah lebih rendah berbanding dengan aktiviti antimikrob minyak pati dalam bentuk asalnya. Kajian terdahulu menerangkan fenomena ini adalah disebabkan oleh kehilangan sebatian meruap semasa penyediaan filem dan menyebabkan aktiviti antimikrobnya terjejas.

Kesimpulan

Hasil kajian menunjukkan bahawa suhu larutan pembentuk filem ketika dicampurkan dengan minyak pati kayu manis, mempengaruhi aktiviti antimikrob filem yang dihasilkan. Sifat minyak pati kayu manis yang meruap menyebabkan aktiviti antimikrob berkurangan apabila suhu yang tinggi digunakan. Berdasarkan keputusan, suhu yang paling ideal untuk minyak pati kayu manis dicampurkan adalah ketika 70 °C. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa minyak pati kayu manis boleh dijadikan sebagai bahan awet semula jadi dalam industri pembungkusan.

Penghargaan

Projek ini disokong oleh geran *Science Fund* (06-03-08-SF0342) dari Kementerian Sains, Teknologi dan Inovasi, Malaysia (MOSTI).

Bibliografi

- Abdollahi, M., Rezaei, M. dan Farzi, G. (2012). A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nano clay into chitosan. *Journal of Food Engineering* 111: 343 – 350
- Avila-Sosa, R., Palou, E., Jiménez-Munguía, M.T., Nevárez-Moorillón, G.V., NavarroCruz, A.R. dan López-Malo, A. (2012). Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *International Journal of Food Microbiology* 153: 66 – 72
- Ayala-Zavala, J.F., del-Toro-Sanchez, L., Alvarez-Parrilla, E. dan Gonzalez-Aguilar, G.A. (2008). High relative humidity in-package of fresh-cut fruits and vegetables: Advantage or disadvantage considering microbiological problems and antimicrobial delivering systems. *Journal of Food Science* 73(4): R41 – R47
- Ayala-Zavala, F.J., González-Aguilar, G.A. dan Del Toro-Sánchez, L. (2009). Enhancing safety and aroma appealing of fresh-cut fruits and vegetables using the antimicrobial and aromatic power of essential oils. *Journal of Food Science* 74: R84 – R91
- Brownmiller, C., Howard, L.R. dan Prior, R.L. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric colour, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *Journal of Food Science* 5(73): H72 – H79
- Cha, D.S. dan Chinnan, M.S. 2004. Biopolymer based antimicrobial packaging: A Review. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 44: 223 – 237.
- Combrinck, S., Regnier, T. dan Kamatou, G.P.P. (2011). In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. *Industrial Crops and Products* 33: 344 – 349
- Goni, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R. dan Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry* 116: 982 – 989
- Guilbert, S., Gontard, N., Morel, M.H., Chalier, P.V. dan Redl, A. (2002). Formation and properties of wheat gluten films and coatings. Dlm. Gennadios, A. (pnyt.). *Protein-based Films and Coatings*, m.s. 69 – 122. Florida: CRC Press.
- Gurdip, S., Sumitra, M., Lampasona, M.P. dan Cesar, A.N.C. (2007). A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and Chemical Toxicology* 45: 1,650 – 1,661
- Hager, T.J., Howard, L.R. dan Prior, R.L. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 689 – 695
- Holley, R.A. dan Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology* 22: 273 – 292
- Jayaprakasha, G.K. dan Rao, L.J. (2011). Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51(6): 547 – 562
- Krochta, J.M. dan De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.* 51: 61 – 72
- Marsh, K. dan Bugusu, B. (2007). Food packaging: Roles, materials, and environmental issues. *Journal of Food Science* 72: 39 – 55
- NCCLS. (1997). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*. Ed. ke-6. Approved Standard. M2-A6. Mayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards

- Saeedeh Arabshahi, D., Vishalakshi Devi, D. dan Urooj, A. (2007). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chemistry* 100: 1,100 – 1,105
- Sánchez-González, L., Chiralt, A., González-Martínez, C. dan Cháfer, M. (2011). Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering* 105(2): 246 – 253
- Siah, W. M., Aminah, A. dan Ishak, A. (2015). Edible films from seaweed (*Kappaphycus alvarezii*). *International Food Research Journal* 22(6): 2230 – 2236
- Siah, W.M., Aminah, A. dan Ishak, A. (2018). Effect of *Cinnanomum zeylanicum* essential oil on the physical and mechanical properties of edible films from *Kappaphycus alvarezii*. *Malaysian Applied Biology Journal* 47(5): 197 – 203
- Siah, W.M. dan Ashahida, A. (2018). Potensi minyak pati tumbuhan untuk pembangunan penyalut makanan antimikrob. *Buletin Teknologi MARDI* Bil. 14: 33 – 38
- Tunc, S., Angellier, H., Cahyana, Y., Chalier, P., Gontard, N. dan Gastaldi, E. (2007). Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. *Journal of Membrane Science* 289 (1 – 2): 159 – 168

Ringkasan

Pencemaran makanan terutamanya pada permukaan kerap berlaku selepas pemprosesan akibat kecuaiian semasa pengendalian. Akibatnya makanan mengalami kerosakan dalam tempoh yang singkat dan menyebabkan pembaziran. Filem pembungkus boleh dimakan yang dicampur dengan minyak pati kayu manis sebagai agen antimikrob berupaya menangani masalah ini. Sifat pemeruapan minyak pati kayu manis akan mempengaruhi keupayaannya untuk merencat pertumbuhan mikroorganisma, maka suhu pemprosesan dalam penyediaan filem pembungkus adalah faktor penting yang perlu dipertimbangkan. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa suhu pemprosesan yang paling ideal ialah 70 °C di mana suhu yang lebih tinggi menyebabkan kuasa perencatan mikroorganisma menurun, manakala suhu yang lebih rendah menyebabkan kesukaran dalam proses penyediaan filem pembungkus.

Summary

Contamination of foods especially on surfaces occurs after processing due to negligence during handling. As a result, these foods have short storage life and causes wastage. Edible packaging films incorporated with cinnamon essential oil as an antimicrobial agent is able to address this problem. The volatile nature of cinnamon essential oils will affect its ability to inhibit the growth of microorganisms, thus processing temperature in the preparation of edible film is an important factor to consider. The results of this study indicated that the ideal processing temperature is 70 °C where higher temperature causes the inhibition power of the microorganism to decrease, while the lower temperature causes difficulties in the preparation of the edible film.

Pengarang

Siah Watt Moey (Dr.)
 Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,
 Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor
 E-mel: wmsiah@mardi.gov.my