

### III. ANTIMIKROBIA DARI REMPAH-REMPAH DAN HERBAL

*Pada bagian ini pembaca/mahasiswa diberikan pemahaman mengenai senyawa aroma dan citarasa yang terkandung di dalam rempah-rempah dan herbal. Lebih rinci dibahas mengenai sifat antimikrobia dari senyawa-senyawa tersebut. Hambatan yang ada ketika ekstrak rempah-rempah dan herbal diaplikasikan langsung di dalam makanan juga dibahas dalam bagian ini baik sebagai penambah citarasa maupun fungsinya sebagai antimikrobia. Dengan demikian, setelah membaca bagian ini pembaca/mahasiswa diharapkan memahami sifat antimikrobia dari senyawa aktif yang terkandung dalam rempah-rempah dan herbal.*

#### **Pendahuluan**

Sejak jaman nenek moyang kita, herbal dan rempah-rempah digunakan pada makanan bukan untuk bahan pengawet, namun sebagai penyedap karena sifat aroma dan citarasanya (citarasa). Walaupun sebagian besar minyak atsiri yang berasal dari herbal dan rempah-rempah mempunyai sifat antimikrobia. Kemampuan bahan aktif yang terkandung di dalam rempah-rempah dan herbal menghambat mikroba tergantung pada jenis senyawa dan konsentrasinya. Semakin tinggi konsentrasi, maka kemampuan antimikrobia dari senyawa aktif tersebut semakin tinggi. Senyawa anti microbial tersebut dapat menghambat mikroba patogen maupun pembusuk, sehingga dengan kemampuan tersebut rempah-rempah dan herbal dapat berfungsi sebagai pengawet makanan.

Senyawa antimikrobia yang diproduksi oleh tanaman dapat secara alami terkandung di dalam tanaman dan dapat pula diproduksi sebagai respon gangguan dari luar. Gangguan dari luar dapat berupa luka secara fisik sehingga memberikan kesempatan enzim bertemu dengan substratnya dan senyawa antimikrobia (fitoaleksin) yang diproduksi akibat invasi mikrobiologis.

Senyawa antimikrobia yang diekstrak dari makanan termasuk ke dalam *Generally Recognized As Safe* (GRAS) karena bersifat alami dan sudah lama digunakan dalam makanan. Penggunaan ekstrak herbal/rempah-rempah dalam makanan sebagai pengawet masih sangat terbatas karena fungsinya sebagai komponen citarasa. Sebagai komponen citarasa, ekstrak rempah-rempah yang digunakan hanya pada konsentrasi

yang rendah, dengan demikian apabila digunakan sebagai pengawet maka dosis penggunaannya akan melebihi tingkat penerimaan secara organoleptik. Masalah ini kemungkinan akan dapat ditanggulangi apabila pertanyaan-pertanyaan berikut dapat terjawab:

- Apakah pengaruh penghambatan minyak atsiri (campuran dari banyak senyawa) ditentukan oleh satu atau beberapa senyawa?
- Apakah minyak atsiri memberikan aktivitas yang sinergi?
- Berapa *minimum inhibitory concentration* (MIC) dari senyawa kimia minyak atsiri?
- Bagaimana substansi antimikrobia apakah dipengaruhi oleh kondisi campuran yang homogeny (cairan atau semi-solid) atau heterogen (emulsi, campuran padatan dan semi padat) dari struktur bahan pangan?
- Dapatkah efikasi dipacu dengan metode pengawetan tradisional (penggaraman, pemanasan, pengasaman) dan modern (kemasan vakum, pengemasan atmosfer termodifikasi)?

Untuk memahami lebih dalam mengenai sifat antimikrobia dari senyawa-senyawa yang terkandung di dalam herbal ataupun rempah-rempah dibutuhkan jawaban dari pertanyaan-pertanyaan tersebut, namun perkembangan literatur mengenai subjek tersebut sangat kurang. Keterbatasan metodologi untuk mengevaluasi aktivitas antimikrobia secara *in vitro* telah menunjukkan hasil yang kontradiktif. Selain itu, sedikit studi yang sudah dilakukan mengenai sifat antimikrobia langsung pada makanan, dan diperlukan studi aplikasi minyak atsiri pada bahan makanan. Beberapa studi yang dapat dilakukan adalah dengan mencampur, mengimersi, enkapsulasi, penyemprotan pada permukaan, mengevaporasi senyawa-senyawa aktif dari minyak atsiri pada kemasan aktif yang merupakan metode menjanjikan hasil yang baik. Metode tersebut belum banyak diteliti berkaitan dengan penggunaan langsung minyak atsiri pada cara pengawetan.

Hasil percobaan dilaboratorium berkenaan dengan senyawa antimikrobia yang terkandung dalam rempah-rempah atau herbal dengan menggunakan kultur media menunjukkan hasil yang positif. Namun demikian, ketika senyawa tersebut diaplikasikan di dalam makanan, menunjukkan hasil yang kontradiktif. Makanan merupakan media kompleks yang dapat mempengaruhi kemampuan aktivitas antimikrobia dari senyawa aktif rempah-rempah maupun herbal. Peningkatan konsentrasi merupakan salah satu

cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan aktivitas antimikrobia tersebut di dalam makanan. Perlu diperhatikan bahwa peningkatan konsentrasi akan mempengaruhi sifat organoleptik makanan. Optimasi penggunaan rempah-rempah dan herbal di dalam makanan perlu dilakukan apabila senyawa aktif tersebut dibutuhkan sebagai bahan pengawet selain untuk citarasa makanan. Sebagai contoh, penambahan 1% bubuk bawang putih ke dalam mayonnaise dapat menurunkan (10 kali lipat) jumlah *S. enterica* serovar Enteritidis yang hidup (Leuschner dan Zamparini, 2002). Selain itu, mengkombinasikan dengan cara pengawetan lain juga dapat dilakukan untuk meningkatkan efikasi antimikrobia dari senyawa aktif dalam rempah-rempah dan herbal.

### **Aktivitas Antimikrobia**

Aktivitas antimikrobia dari persenyawaan yang diekstrak dari tanaman terhadap berbagai jenis mikroorganisme, yang diuji invitro dan secara individual, terdokumentasi dengan baik di berbagai literatur. Namun demikian, hasil yang dilaporkan dari berbagai studi sulit untuk dibandingkan secara langsung. Minyak atsiri yang diekstrak dari rempah-rempah dan herbal merupakan gabungan dari banyak senyawa. Senyawa tunggal belum tentu memperlihatkan aktivitas yang lebih tinggi. Sering terjadi sinergisme dari kombinasi senyawa yang terkandung di dalam minyak atsiri memberikan aktivitas antimikrobia yang tinggi. Juga tidak selalu jelas kelihatan apakah metode yang digunakan ditujukan untuk mengukur bakteristatik atau bakterisidal atau kombinasi keduanya. Asai antimikrobia yang digambarkan dalam literatur meliputi pengukuran dari:

- Radius atau diameter daerah penghambatan dari pertumbuhan bakteri disekitar cakram kertas (*paper disk*) yang diisi dengan (atau lubang/*well* yang diisi) senyawa antimikrobia pada media agar (Gambar 16);
- penghambatan pertumbuhan bacteria pada medium agar dengan senyawa antimikrobia yang terdifusi ke dalam agar;
- konsentrasi penghambatan minimum (MIC) dari senyawa antimikrobia dalam media cair;
- perubahan *optical density* (OD) atau kekeruhan di dalam cairan media pertumbuhan yang mengandung senyawa antimikrobia.



Gambar 16. Aktivitas penghambatan senyawa antimikrobia dengan metode difusi menggunakan *paper disk*.

Tabel 9. Senyawa antimikrobia yang terkandung secara alami di dalam tanaman

---

Apigenin-7-glucose, aureptan
Benzoic acid, berbamine, berberine, borneol
Caffeine, caffeic acid, 3-o-caffeylquinic acid, 4-o-caffeylquinic acid, 5-o-caffeylquinic acid, camphene camphor, carnosol, carnosic acid, carvacrol*, caryophelene, catechin, 1,8 cineole, cinnamaldehyde, cinnamic acid, citral, chlorogenic acid, chicorin, columbamine, coumarine, p-coumaric acid, o-coumaric, p-cymene, cynarine
Dihydrocaffeic acid, dimethyloleuropein
Esculin, eugenol
Ferulic acid
Gallic acid, geraniol, gingerols,
Humulone, hydroxytyrosol, 4-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxycinnamic acid
Isovanillic, isoborneol
Linalool, lupulone, luteoline-5-glucoside, ligustroside, S-limonene
Myricetin, 3-methoxybenzoic acid, menthol, menthofurane
Oleuropein
Paradols, protocatechuic acid, o-pyrocatechic, a-pinene, b-pinene, pulegone
Quercetin Rutin, resocrylic Salicylaldehyde, sesamol, shogoals, syringic acid, sinapic
Tannins, thymol, tyrosol, 3,4,5-trimethoxybenzoic acid, 3,4,5-thihydroxyphenylacetic acid
Verbascoside, vanillin, vanillic acid

---

Banyaknya metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antimikrobia suatu bahan merupakan pilihan yang ditawarkan kepada peneliti. Namun demikian, masing-masing metode mempunyai kelebihan dan kelemahan yang perlu diperhatikan tergantung dari jenis komponen aktif dan target mikroba yang dihambat. Tiga faktor utama dapat mempengaruhi hasil dari metode yang digunakan untuk penentuan aktivitas antimikrobia dari minyak atsiri tanaman, yaitu: (i) komposisi tanaman yang diuji (jenis tanaman, lokasi geografis dan waktu/musim), (ii) jenis mikroorganisme (strain,

kondisi pertumbuhan, ukuran inokulum, dll.), dan (iii) metode yang digunakan untuk menumbuhkan dan menghitung jumlah bakteri yang bertahan hidup (Sibel, 2003). Banyak studi yang didasarkan pada assessmen subjektif terhadap penghambatan pertumbuhan, seperti metode *disc diffusion* atau metode cepat seperti dengan melihat *optical density* (turbidimetri) tanpa memperhitungkan keterbatasan yang melekat pada metode tersebut. Pada metode yang menggunakan cakram kertas (*paper disc*), daerah penghambatan tergantung pada kemampuan minyak atsiri berdifusi secara merata ke dalam agar dan juga melepaskan senyawa volatil dari minyak. Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil adalah keterlibatan banyak komponen aktif. Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil analisis adalah keterlibatan berbagai senyawa (*multiple active components*) yang terkandung di dalam ekstrak herbal atau rempah-rempah. Senyawa-senyawa tersebut pada konsentrasi yang rendah dapat berinteraksi secara antagonis maupun sinergis. Perbedaan aktivitas antimikrobia dari minyak atsiri dari bahan pangan yang kompleks dibandingkan dengan aktivitas apabila dicoba sendiri di laboratorium dapat disebabkan oleh pemisahan komponen aktif antara fase minyak dan air di dalam bahan pangan.

Metode analisis menggunakan turbidimetri merupakan metode yang cepat, tidak merusak, murah serta mudah dilakukan namun mempunyai sensitifitas yang rendah. Pada metode turbidimetri semua sel terdeteksi baik yang hidup maupun sel yang mati dan hanya terdeteksi pada bagian atas (tersuspensi), sehingga memerlukan kalibrasi yang mengkorelasikan kekeruhan dengan sel hidup yang ditumbuhkan pada medium agar. (Dalgaard and Koutsoumanis, 2001). Perubahan absorbansi yang jelas terjadi apabila populasi mikrobia mencapai  $10^6 - 10^7$  cfu/ml, dan juga dipengaruhi oleh ukuran mikrobia yang berbeda pada setiap fase pertumbuhan. Kondisi fisiologis sel (sakit atau sehat) dan hasil oksidasi dari minyak atsiri dapat juga mempengaruhi absorbansi media pertumbuhan yang terukur. Tidak seperti teknik hitungan cawan, metode yang didasarkan pada penghambatan pertumbuhan (*impedimetri*) dapat digunakan untuk memantau metabolisme mikrobia yang sesungguhnya. Teknik ini bergantung pada penggunaan medium yang memberikan perubahan pertumbuhan yang terdeteksi. Seperti pada teknik turbidometri, kalibrasi data pertumbuhan dengan hitungan cawan sangat diperlukan. Walaupun memerlukan waktu dan tenaga yang lebih, metode tradisional dengan menentukan jumlah mikroba yang hidup (*viable*) dengan hitungan cawan masih merupakan metode standard terbaik dalam penentuan aktivitas

antimikrobia. MIC diukur dengan seri pengenceran dalam media cair diikuti dengan penentuan pertumbuhan dengan membaca absorbansi maupun hitungan cawan.

Tabel 10. Beberapa contoh mikroorganisme yang sensitif terhadap aktivitas antimikrobia ekstrak minyak atsiri dari herbal dan rempah-rempah\*

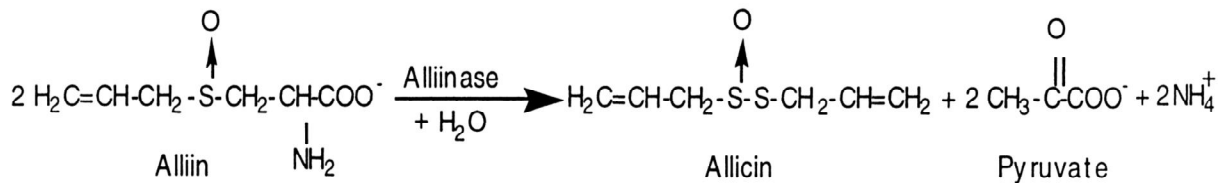
<b>Bacteri Gram-positive</b>	<b>Bacteri Gram-negative</b>	<b>Kapang/Khamir</b>
<i>Arthobacter</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. <i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>Brevibacterium ammoniagenes</i> , <i>Brev. linens</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Cl. perfringenes</i> , <i>Cl. sporogenes</i> , <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. minor</i> , <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Leuc. cremoris</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i> <i>Micrococcus</i> sp., <i>M. luteus</i> <i>M. roseus</i> , <i>Pediococcus</i> spp., <i>Photobacterium phosphoreum</i> , <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Sarcina</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Staph. aureus</i> , <i>Staph. epidermidis</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Acetobacter</i> spp. <i>Acinetobacter</i> sp., <i>A. calcoaceticus</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Alcaligenes</i> sp., <i>A. faecalis</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Citrobacter</i> sp., <i>C. freundii</i> , <i>Edwardsiella</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>E. aerogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Erwinia carotovora</i> , <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Fl. suaveolens</i> , <i>Klebsiella</i> sp., <i>K. pneumonia</i> , <i>Moraxella</i> sp., <i>Neisseria</i> sp., <i>N. sicca</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Pseudomonas</i> spp. <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. fragi</i> , <i>P. clavigerum</i> <i>Proteus</i> spp. <i>Pr. vulgaris</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Sal. enteritidis</i> , <i>Sal. senftenberg</i> , <i>Sal. typhimurium</i> , <i>Serratia</i> sp. <i>S. marcescens</i> , <i>Vibrio</i> sp., <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Asp. Parasiticus</i> , <i>Asp. flavus</i> <i>Asp. Ochraceus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Dekkera bruxellensis</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>Mucor</i> sp., <i>Pichia anomala</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Pen. chrysogenum</i> , <i>Pen. patulum</i> , <i>Pen. roquefortii</i> , <i>Pen. citrinum</i> , <i>Rhizopus</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Torulopsis holmii</i> , <i>Pityrosporum ovale</i> ,

\*Sibel (2003).

Hampir semua minyak atsiri dari herbal dan rempah-rempah menghambat pertumbuhan mikrobia termasuk produksi toksinnya. Pengaruh antimikrobia bergantung pada konsentrasi dan semakin tinggi konsentrasi maka sifat bakterisidalnya juga semakin tinggi. Bakteri Gram-positif, Gram-negatif, khamir dan kapang semuanya dihambat dengan kisaran yang luas dari minyak atsiri. Aktivitas antimikrobia dari senyawa yang

terkandung di dalam minyak atsiri dipengaruhi oleh medium yang digunakan dalam pengujian, suhu inkubasi dan ukuran inokulum (Ayers *et al.*, 1998; Brul and Coote, 1999).

Alliin, yang merupakan salah satu senyawa aktif yang terdapat di dalam hancuran bawang putih segar, mempunyai beragam aktivitas antimikrobia. Alliin dalam bentuk senyawa murni memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negative termasuk *E. coli* dari strain *multidrug-resistant enterotoxigenic*; antifungal khususnya terhadap *Candida albicans*; antiparasit, termasuk parasit protozoa seperti *Entamoeba histolytica* dan *Giardia lamblia*; dan aktivitas antiviral (Angkri dan Mirelman, 1999)



Gambar 17. Peran alliinase dalam perubahan alliin menjadi allicin.

### Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dari minyak atsiri yang diekstrak dari herbal dan rempah-rempah sudah dikenal sejak lama. Sekarang ini, banyak penelitian yang dilakukan berkaitan dengan aktivitas senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam minyak atsiri yang diekstrak dari berbagai jenis herbal dan rempah-rempah. Herba maupun rempah-rempah sering digunakan sebagai bahan bumbu untuk penyedap makanan. Selain itu, karena potensi bioaktifnya, herbal dan rempah-rempah banyak juga digunakan sebagai bahan obat-obatan (*pharmaceutical*) dan berfungsi sebagai bahan pengawet makanan karena sifat antibakterinya.

Hampir semua herbal dan rempah-rempah mempunyai senyawa aktif yang berfungsi sebagai antimikrobia, namun beberapa ekstrak herbal dan rempah-rempah mempunyai sifat khusus sebagai antibakteri. Tanaman ara (*Carpobrotus edulis*) sering digunakan sebagai obat penyakit infeksi seperti sinusitis, diarrhea, infantile eczema, dan tuberculosis. Ekstrak daunnya juga sering digunakan untuk mengobati infeksi mulut dan radang tenggorokkan. Ekstrak kasar metanolik dari tanaman ara mempunyai aktivitas

antibakteri terhadap bakteri *Moraxella catharralis* pada konsentrasi 50 mg ml<sup>-1</sup>, namun ekstrak etanoliknya tidak terdeteksi mempunyai aktivitas (van der Watt dan Pretorius, 2001). Senyawa terdeteksi yang terkandung di dalam tanaman ara adalah senyawa flavonoid (rutin, neohesperidin, hyperoside, cactichin dan ferulic acid) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *M. catharralis* (Gram negative) dan dua bakteri Gram positive (*Staphylococcus epidermidis* dan *Staph. aureus*) Di Afrika ekstrak kulit kayu dan daun marula (*Sclerocarya birrea*) juga digunakan sebagai bahan pengobatan untuk penyakit yang berhubungan dengan bakteri. Ekstrak bagian dalam kulit kayu mempunyai potensi antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian luar kulit kayu maupun dari daun marula. Semua bakteri yang dicoba, *Staph. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*, pada MIC 0,15 sampai 3,0 mg.ml<sup>-1</sup> (Eloff, 2001).

Rempah-rempah dan herbal sering digunakan sebagai bahan untuk meningkatkan citarasa makanan dan memperbaiki warna makanan, sehingga makanan mempunyai nilai kuliner yang spesifik sesuai dengan asal dari makanan tersebut. Beberapa hasil penelitian juga memperlihatkan bahwa komponen yang terkandung di dalam herbal dan rempah-rempah memperlihatkan sifat antibakteri yang dapat meningkatkan keamanan makanan yang dikonsumsi. Penelitian yang dilakukan terhadap minyak atsiri yang diekstrak dari *origanum*, *thymbra* and *satureja* memperlihatkan kemampuan untuk menghambat bakteri. Rempah-rempah ini biasa digunakan sebagai bahan untuk meningkatkan citarasa makanan di Turki (Baydar *et al.*, 2004). Rempah-rempah lain yang sering digunakan di dalam ingredient makanan adalah bawang putih, mustard, cengkeh dan jahe. Keempat rempah tersebut sudah diteliti dapat menghambat bakteri di dalam sistem makanan yang disimulasikan. Cengkeh mempunyai aktivitas antibakteri yang paling tinggi diikuti bahan bawang putih, sedangkan mustard dan jahe memperlihatkan aktivitas antibakteri yang lebih kecil di dalam model sistem makanan (Leuschner dan Zamparini, 2002). Bawang putih memperlihatkan aktivitas antibakteri dengan sifat sensori yang baik dari mayonnaise. Bawang putih (pada konsentrasi 1%) dapat menurunkan bakteri hidup (*Salmonella enterica* serovar Enteritidis) di dalam mayonnaise sebesar 1 siklus log. Penelitian lain menunjukkan bahwa empat minyak atsiri (kayu manis, cengkeh, *pimento* dan *rosemary*) memperlihatkan efek penghambatan yang kuat terhadap bakteri pembusuk daging (Quattara *et al.*, 1997). Aktivitas antibakteri tersebut berhubungan dengan adanya bahan-bahan yang mudah menguap dalam minyak atsiri. Cinnamon (kayu manis) dan cengkeh mengandung



cinamaldehida dan eugenol pada konsentrasi berturut-turut 65-75% dan 93-95% dari total kandungan senyawa volatil yang bertanggung jawab terhadap efek antibakteril. Prasad dan Seenayya (2000) menyatakan bahwa cengkeh memberikan hambatan paling baik terhadap bakteri halofilik dan pada konsentrasi 0,1% memberikan penghambatan sempurna, sehingga minyak cengkeh dapat digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri halofilik pada produk ikan yang diasinkan.

*Helicobacter pylori* merupakan jenis bakteri yang tergolong dalam bakteri Gram negative, berbentuk batang bengkok yang sering dihubungkan dengan penyakit kronis pencernaan dan *gastroduodenal ulcer disease*, serta perannya dalam kanker saluran pencernaan. Banyak penelitian dilakukan untuk dapat menghilangkan/membasmi kuman ini di dalam saluran pencernaan. Salah satu penelitian yang dilakukan oleh peneliti adalah dengan menggunakan ekstrak bawang putih (Cellini *et al.*, 1996). Penelitian pengaruh ekstrak bawang putih dilakukan terhadap 16 isolat klinis dan 3 strain referensi *H. pylori*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih dapat menghambat semua strain *H. pylori* pada konsentrasi antara 2 – 5 mg ml<sup>-1</sup>, dan konsentrasi ekstrak bawang putih yang dibutuhkan untuk menghambat 90% (MIC<sub>90</sub>) dari isolate adalah 5 mg ml<sup>-1</sup>. Ekstrak bawang putih segar memberikan penghambatan 2 – 4 kali lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak bawang putih yang direbus. Tirranen *et al.* (2001) dalam penelitiannya memperlihatkan hasil pengamatan yang menarik, yaitu emisi senyawa volatil tanaman bawang putih muda secara meyakinkan menstimulasi pertumbuhan *S. aureus*, *B. brevis*, *Haphnia alvei*, dan sedikit menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *B. cereus*. Bawang putih muda maupun tua sedikit menghambat *Nocardia* sp. Namun demikian, bawang putih yang sudah tua (umur 50 hari) mempunyai aktivitas antimikrobia dengan kisaran luas menghambat bakteri Gram negative dan Gram positif pembentuk spora dan dalam bentuk cocci.

Rempah-rempah dan herbal telah memperlihatkan mempunyai nilai obat-obatan, terutama sebagai antimikrobia. Dari semua jenis tanaman, ternyata bawang putih dan cengkeh memperlihatkan aktivitas antimikrobia yang tinggi (Arora dan Kaur, 1999). Pengaruh bakterisidal dari ekstrak bawang putih sangat nyata terjadi setelah 1 jam dan membunuh 93% *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* tercapai dalam waktu 3 jam.

Dari potensi antibakteri yang dimiliki herbal dan rempah-rempah, maka produk ini banyak digunakan untuk meningkatkan daya awet makanan dan juga untuk pengobatan

terhadap penyakit-penyakit infeksi. Peninggalan budaya nenek moyang di berbagai daerah di Indonesia ternyata sangat kaya akan pengetahuan pengobatan herbal. Kekayaan ini perlu untuk diungkapkan secara ilmiah dan dilakukan penelitian mendalam untuk pengembangan teknologi yang tepat sehingga potensi hayati ini dapat dikembangkan untuk kesejahteraan masyarakat. Selain untuk pengobatan, bahan rempah-rempah dan herbal dapat dikembangkan sebagai bahan pengawet alami selain meningkatkan citarasa, aroma dan warna makanan.

### **Aktivitas Antijamur**

Selain mempunyai aktivitas antibakteri, beberapa rempah-rempah dan herbal juga mempunyai aktivitas antijamur. Sifat antifungal yang dimilikinya sering dimanfaatkan sebagai pengawet makanan maupun obat untuk mencegah dan mengobati penyakit infeksi oleh jamur. Penggunaan rempah atau herbal sebagai antijamur di dalam makanan sangat menguntungkan dan dapat sebagai pengganti fungisida sintesis. Penelitian sifat antijamur ekstrak rempah dan herbal banyak dilakukan untuk memperoleh bahan alami (GRAS) yang digunakan untuk makanan maupun obat-obatan.

Ekstrak bawang putih, selain mempunyai aktivitas antibakteri, juga mempunyai aktivitas antijamur (Arora dan Kaur, 1999; Yin dan Tsao, 1999). Tiga spesies *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus* dan *A. fumigatus*) dapat dihambat oleh ekstrak bawang putih, dan penghambatannya meningkat apabila dikombinasikan dengan penambahan asam asetat (Yin dan Tsao, 1999). Ketiga spesies *Aspergillus* tersebut banyak berperan dalam proses kerusakan pangan maupun pakan.. *Aspergillus flavus* dapat menghasilkan mikotoksin di dalam makanan, sehingga penggunaan antijamur pada makanan sangat diperlukan untuk menghindari tumbuhnya jamur dan terbentuknya toksin. Ekstrak bawang putih juga dapat membunuh khamir secara total dalam waktu inkubasi 1 jam. Penghambatan ini lebih cepat dibandingkan dengan ekstrak cengkeh yang membutuhkan waktu 5 jam untuk membunuh khamir secara total (Arora dan Kaur, 1999). Ekstrak bawang putih memperlihatkan aktivitas anti-candidal yang lebih tinggi dibandingkan dengan nystatin. Wang dan Ng (2001) menemukan allivin (jenis protein) yang disolasi dari bawang putih mempunyai aktivitas antijamur.

Minyak yang diekstrak dari kunyit dapat menghambat isolate dermatophyta, kapang patogenik dan khamir, namun curcumin tidak memperlihatkan aktivitas penghambatan terhadap isolate jamur tersebut kecuali khamir (Aplsarlyakul *et al.*, 1995).

Dermatomycosis merupakan penyakit kulit umum di berbagai Negara yang disebabkan oleh infeksi jamur. Jamur yang menginfeksi umumnya dari jenis jamur keratinofilik yang disebut dermatophyta. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Apisaryakul *et al.* (1995) ditemukan bahwa minyak kunyit dapat menghambat pertumbuhan dermatophyta. MIC terhadap *Microsporum gypseum* adalah pada pengenceran 1:80, sedangkan MIC terhadap *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, dan *Trichophyton rubrum* berturut-turut pada pengenceran 1:60-1:320, 1:40-1:160, dan 1:40-1:160. Selanjutnya, konsentrasi penghambatan minimum terhadap kapang patogen (*pathogenic moulds*) terlihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Konsentrasi penghambatan minimal (MIC) minyak kunyit dan ekstrak kasar kunyit terhadap empat kapang patogen\*

Kapang Patogenik	Strains	MIC ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )	
		Minyak	Ekstrak kasar
<i>Exophiala jeanselmei</i>	MMC 17	459.6	> 10.000
<i>Sporothrix schenckii</i>	MMC 38	114.9	> 10.000
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	MMC 42	459.6	> 10.000
<i>Scedosporium apiospermum</i>	MMC 70	114.9	>10.000

\* Apisaryakul *et al.* (1995)

### Sifat Antimikrobia pada Makanan

Perkembangan teknologi pengawetan untuk memperpanjang masa simpan produk pangan sangat pesat seiring dengan meningkatnya kebutuhan industri pangan dan penyediaan pangan sepanjang tahun. Sistem pengawetan seperti pemanasan, pendinginan, dan penambahan bahan pengawet dapat memperpanjang masa simpan dan menurunkan berkembangnya mikroba patogen yang beresiko menyebabkan penyakit. Namun demikian, konsumen sudah mulai menghindari penggunaan bahan-bahan pengawet sintetis sebagai antimikrobia dan menghendaki makanan yang bebas bahan kimia. Kondisi ini memberikan peluang penggunaan bahan antimikrobia alami oleh industri pangan untuk memperpanjang masa simpan, seperti dalam bentuk enzim (laktoperoksidase, laktoferin, avidin, lysozym), antimikrobia yang diproduksi menggunakan kultur mikroba (nisin dan jenis bakteriosin lainnya), dan yang bersumber dari tanaman (rempah-rempah dan herbal berupa ekstrak, minyak atsiri ataupun komponen yang diisolasi dari rempah-rempah atau herbal).

Relatif masih sedikit penelitian yang mengarah pada penggunaan ekstrak rempah dan herbal sebagai antimikrobia (pengawet) dalam model makanan atau makanan yang sebenarnya. Kemampuan antimikrobia minyak esensial *in-vitro* sering lebih besar dibandingkan *in-situ* di dalam makanan (Davidson, 1997). Sebagai contoh: minyak atsiri dari *mint* (*Mentha piperita*) terlihat menghambat pertumbuhan dari *Salmonella enteritidis* dan *Listeria monocytogenes* dalam media kultur selama 2 hari pada suhu 30°C. Namun, pengaruh ekstrak minyak atsiri dari mint pada makanan sangat beragam tergantung pada jenis makanan dan kondisi makanan seperti pH, emulsi, suhu dan komposisi makanan. Pertumbuhan *E. coli*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* dan *Staph. aureus* terhambat oleh minyak atsiri ekstrak dari oregano di dalam kultur cair. Ketika minyak atsiri tersebut dicoba pada makanan (*salad*, *taramasalata*, dan *mayonnaise*), aktivitas antimikrobia minyak atsiri tersebut tergantung pada faktor lingkungan seperti pH, suhu dan jenis minyak yang digunakan. Demikian pula, konsentrasi minyak atsiri sangat berpengaruh terhadap aktivitas antimikrobiana. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri yang diaplikasikan, maka semakin tinggi pula aktivitas antimikrobia minyak atsiri tersebut.

Tabel 11. Beberapa contoh minyak atsiri yang umum digunakan untuk pengawetan makanan dan bahan aktifnya\*

Herbal/rempah-rempah	Senyawa Aktif	Herbal/rempah-rempah	Senyawa Aktif
Semua rempah	Eugenol Methyl eugenol	Mint	$\alpha$ -, $\beta$ -pinene limonene 1,8-cineole
Jinten	Carvone	Bawang	d-n-propyl disulfide methyl-n-propyl disulfide
Kayu Manis	Cinnamaldehyde Eugenol	Oregano	Thymol Carvacrol
Cengkeh	Eugenol Eugenol acetate	Merica/Lada	Monoterpenes
Ketumbar	d-linalool d- $\alpha$ -pinene $\beta$ -pinene	Rosemary	Borneol 1,8-cineole Camphor Bornyl acetate
Kunir	Cuminaldehyde	Sage	Thujone 1,8-cineol Borneol
Bawang Putih	Diallyl disulfide Diallyl trisulfide allyl Propyl disulfide	Thyme	Thymol Carvacrol Menthol Menthone

\*Sibel, 2003.

Tabel 12. Penggunaan minyak atsiri dalam makanan

Jenis Makanan	Mikroorganisme	Minyak atsiri
Susu (segar, skim)	<i>Staph. aureus, Salmonella enteritidis, P. fragi</i>	Mastic gum
Produk susu: soft cheese, mozzarella	<i>L. monocytogenes Sal. Enteritidis</i>	Clove, cinnamon, thyme
Daging segar: potong atau giling	<i>Sal. typhimurium dan Sal. enteritidis Staph. Aureus P. fragi, L. monocytogenes Lactic acid bacteria, Br. thermosphacta, Enterobacteriaceae, Yeasts &amp; indigenous flora</i>	Oregano, clove, basil, sage
Produk daging: Pate Sosis	<i>L. monocytogenes, Salmonella enteritidis, Indigenous flora, Br. thermosphacta, E. coli</i>	Mint
Ikan: Gilt-head bream	<i>Salmonella enteritidis, Staph. aureus, Photobacterium phosphoreum</i>	Oregano, Basil, bay, cinnamon, clove, lemongrass, marjoram, oregano, sage, thyme
Cod filets, salmon		
Salad dan dressing: Tuna, kentang, terung, taramasalata, mayonnaise, tzatziki Saus	<i>Staph. aureus, Salmonella enteritidis, P. fragi L. monocytogenes, Sh. Putrefaciens, Br. thermosphacta, E. coli Indigenous flora, Salmonella enteritidis and typhimurium Staph. aureus, P. fragi</i>	Carob Mint, oregano, basil, sage

Banyak penelitian yang juga dilakukan untuk memanfaatkan senyawa antimikrobia alami rempah-rempah dan herbal sebagai bahan pengawet bahan pangan segar seperti: sayuran, ikan dan daging. Potensi senyawa antimikrobia dari ekstrak rempah-rempah maupun herbal dapat dijadikan rujukan untuk menggunakannya sebagai bahan pengawet alami. Pengawet alami tersebut dapat digunakan untuk menghambat mikroba pembusuk maupun mikroba patogen. Sebagai contoh, *L. monocytogenes* dan *Salmonella typhimurium* dihambat pertumbuhannya di dalam daging yang berturut-turut diberi perlakuan dengan minyak atsiri cengkeh dan oregano (Tsigarida *et al.*, 2000;

Skandamis *et al.*, 2002a). *S. typhimurium* bertahan hidup di dalam daging yang tidak diberi perlakuan, sementara yang ditambahkan minyak atsiri oregano pada konsentrasi 0,8% jumlah bakteri yang hidup menurun 1 – 2 log cfu/g. Pada tingkat konsentrasi yang sama minyak oregano dapat menurunkan jumlah *L. monocytogenes* sebesar 2– 3 log cfu/g dalam daging. Penurunan pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* juga dilaporkan di dalam daging babi tanpa curing yang dimasak dengan perlakuan penambahan minyak cengkeh atau ketumbar dan dikemas vakum atau tanpa vakum yang disimpan pada suhu 2° dan 10°C. Pengaruh letal dari kedua jenis minyak ini lebih tinggi pada kondisi kemasan vakum dibandingkan dengan kondisi yang aerob (Stecchini *et al.*, 1998). Adanya oksigen di dalam kemasan mempengaruhi efikasi antimikrobia minyak atsiri. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa aktivitas antimikrobia minyak oregano terhadap *Staph. aureus* dan *Salmonella enteritidis* dipacu ketika organism tersebut diinkubasi pada kondisi mikroaerobik atau anaerobic. Pada kondisi oksigen yang rendah, perubahan sifat oksidatif minyak atsiri juga rendah. Selain itu, minyak oregano lebih efektif aktivitasnya pada kondisi vakum dan pada kondisi atmosfer 40% CO<sub>2</sub>:30%O<sub>2</sub>:30%N<sub>2</sub> apabila film impermeable digunakan dibandingkan dengan inkubasi aerobik atau dikemas dalam kemasan yang permeable terhadap O<sub>2</sub> (Tsigarida *et al.*, 2000; Skandamis *et al.*, 2002). Minyak oregano mempunyai aktivitas sebagai bakterostatik dan bakteriosidal pada ikan segar (*Sparus aurata*) yang diinokulasi *Staph. aureus* and *Salmonella enteritidis* dan disimpan pada kondisi MAP (40% CO<sub>2</sub> , 30% O<sub>2</sub> dan 30% N<sub>2</sub> ) atau kondisi aerob (udara) pada suhu 1°C. Pertumbuhan mikroba pembusuk seperti *Shewanella putrefaciens* dan *Photobacterium phosphoreum* juga dihambat pada ikan yang diperlakukan dengan minyak oregano (Tassou *et al.*, 1996). Penurunan yang sama juga dilaporkan untuk minyak atsiri yang diperlakukan pada daging dan ikan (Skandamis and Nychas, 2001). Semua studi di atas memperlihatkan bahwa aktivitas antimikrobia yang didemonstrasikan *in vitro* tidak semua memperlihatkan indikasi yang baik pada pengawetan pangan. Senyawa aktif dari minyak atsiri sering terikat dengan komponen makanan (seperti protein, lemak, gula-gula, dll.). Oleh karena itu, hanya proporsi minyak atsiri yang bebas dari dosis total yang berperan sebagai aktivitas antimikrobia. Faktor ekstrinsik seperti suhu juga membatasi aktivitas antimikrobia minyak atsiri (Davidson, 1997). Selain itu, distribusi pada fase yang berbeda (*solid/liquid*) di dalam makanan dan ketidakhomogenan pH dan air dapat juga berperan terhadap efikasinya. Interaksi antara komponen yang berbeda di dalam makanan dapat membuat perubahan pH pada produk akhir dan juga pada konsentrasi

yang berbeda dari antimikrobia pada fase yang berbeda. Kapasitas penyangga lokal dari ingredient makanan menentukan pH pada daerah yang spesifik dari makanan yang kompleks. Karena distribusi mikroorganisme di dalam makanan tidak homogen, maka aktivitas antimikrobia juga tergantung pada densitas mikroba pada struktur makanan dan pada keberadaan sumber karbon yang ditentukan oleh kemampuan berdifusi. Ekologi mikroba dari bahan pangan, kapasitas penyangga (buffer), pH dan struktur makanan spesifik semuanya harus diperhitungkan dalam menentukan aktivitas antimikrobia dari senyawa bioaktif. Pertumbuhan bakteri di dalam cairan akan tersebar/tersuspensi, berbeda kontras dengan pertumbuhan koloni yang terpisah pada matriks yang padat (Wilson *et al.*, 2002). Kasus lain yang bias terjadi adalah sel diimmobilisasi dan dilokalisasi dalam jumlah banyak di dalam matriks makanan. Uji lainnya telah memperlihatkan bahwa atribut fisiologis pertumbuhan bakteri di dalam model matriks makanan secara nyata berbeda dengan pertumbuhan sel secara bebas di dalam media kultur cair (Skandamis *et al.*, 2000; Wilson *et al.*, 2002). Perbedaan-perbedaan ini dapat dihitung dengan: (i) densitas populasi *per se*, (ii) difusivitas dan keberadaan nutrisi utama, (iii) adanya oksigen, dan (iv) akumulasi produk akhir (Stecchini *et al.*, 1993; Skandamis *et al.*, 2000). Sementara difusivitas nutrient dengan berat molekul rendah seperti glukosa dapat hampir sama seperti dalam cairan dan matriks gel, dimana agen antimikrobia dapat sangat berbeda dan dapat secara kuat mempengaruhi efikasinya di dalam matriks padat (Diaz *et al.*, 1993; Stecchini *et al.*, 1998). Bahan berminyak di dalam emulsi membentuk tetesan dengan diameter 10-18 $\mu$ m (Wilson *et al.*, 2002). Difusi tetesan tersebut dipengaruhi oleh densitas, viskositas, dan karakteristik yang berhubungan dengan struktur medium. Dengan demikian, mobilitas yang lebih tinggi dari tetesan minyak atsiri di dalam media cair dapat merupakan faktor yang sangat penting memacu penghambatan bakteri target.

### **Model Penghambatan**

Secara umum, *mode of action* minyak atsiri adalah ketergantungan terhadap konsentrasinya. Pada konsentrasi rendah menghambat kerja enzim yang berhubungan dengan produksi energi sementara konsentrasi yang lebih tinggi dapat mempresipitasi protein. Namun demikian, tidak pasti apakah kerusakan membran secara jumlah berhubungan dengan jumlah senyawa aktif antimikrobia terekspos terhadap sel, atau pengaruhnya kerusakan kecil membran dilanjutkan dengan kerusakan sel. Carvacrol, komponen aktif dari banyak minyak atsiri, dapat menyebabkan sitoplasma dan membran

luar sel tidak stabil dan dapat berperan sebagai 'penukar proton' yang menghasilkan penurunan gradient pH sepanjang membran sitoplasma (Ultee *et al.*, 1999). Rusaknya 'proton motive force' dan berkurangnya *pool* ATP akhirnya akan mengarah pada kematian sel. Seperti pada kerja bahan pengawet umumnya, minyak atsiri akan menyebabkan kebocoran ion, ATP, asam nukleat dan asam amino. Tidak seperti antibiotika, minyak atsiri dapat mencapai periplasma bakteri Gram-negatif melalui protein porin dari membran luar. Permeabilitas membran sel tergantung pada komposisinya dan hidropobisitas komponen yang melewatinya (Helander *et al.*, 1998). Suhu rendah menurunkan kelarutan minyak atsiri dan menghambat penetrasi ke dalam membran. Gugus aldehida yang sangat reaktif dari senyawa antimikrobia tanaman (seperti citral, salicyldehyde) membentuk basa Schiff's dengan protein membran sehingga mencegah biosintesis dinding sel. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa allicin dapat dengan mudah masuk ke dalam sitoplasma sel darah merah. Bilayer lipida tidak merupakan hambatan untuk penetrasi allicin ke dalam sitoplasma dan difusinya melalui bilayer lipida tidak mengakibatkan rusaknya membran. Temuan ini memunculkan kemungkinan bahwa di dalam sistem biologis allicin dapat melakukan penetrasi secara cepat ke dalam bagian-bagian sel yang berbeda dan menimbulkan efek biologis (Miron *et al.*, 2000).

Dari ulasan hasil-hasil penelitian dan kajian di atas dapat dirangkum bahwa komponen aktif yang terkandung dalam minyak atsiri hasil ekstraksi dari rempah-rempah dan herbal mempunyai aktivitas antimikrobia. Secara umum juga dapat dinyatakan bahwa bakteri Gram-positif lebih sensitive terhadap senyawa antimikrobia yang terkandung dalam rempah-rempah dibandingkan dengan bakteri Gram-negatif. Untuk itu, ekstrak rempah-rempah dan herbal dapat digunakan sebagai bahan pengawet makanan alami dan dapat juga dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan (*herbal medicine*).

## Daftar Pustaka

- Ankri, S. dan Mirelman, D. 1999. Antimikrobia properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*. 2: 125–129.
- Aplsarlyakul, A., Vanittanakom, N., and Buddhasukh, D. 1995. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 49: 163-169.
- Arora, D.S. and Kaur, J. 1999. Antimikrobia activity of spices. *International Journal of Antimikrobia Agents*. 12: 257–262.
- Ayres, H.M., Payne, D.N., Furr, J.R. dan Russell, A.D. 1998. Use of the Malthus-AT system to assess the efficacy of permeabilizing agents on the activity of



- antibacterial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. *Letters in Applied Microbiology*. 26: 422.
- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G. dan Karadogan, T. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 15: 169–172
- Brul, S. dan Coote, P. 1999. Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*. 50: 1– 17.
- Cellini, L., Di Campi, E., Masulli, M., Di Bartolomeo, S. dan Allocati, N. 1996. Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 13: 273-277.
- Dalgaard, P. dan Koutsoumanis, K. 2001. Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models. *Journal of Microbiological Methods*. 43: 183-196.
- Davidson, P.M. (1997) Chemical Preservatives and Natural antimikrobia compounds. *In Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*, Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (eds): 520– 556, NY: ASM Press.
- Diaz, G., Wolf, W., Kostaropoulos, A.E. and Spiess, W.E.L. 1993. Diffusion of lowmolecular weight compounds in food model system. *Journal of Food Processing and Preservation*. 17: 437– 454.
- Eloff, J.N. 2001. Antibacterial activity of Marula (*Sclerocarya birrea* (A. rich.) Hochst. subsp. *caffra* (Sond.) Kokwaro) (Anacardiaceae) bark and leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 76: 305–308
- Helander-Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E.J., Wright, I.K., dan Von, A. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria. *Journal of Agricultural Chemistry*. 46: 3590– 3595.
- Leuschner, R.G.K. dan Zamparini, J. 2002. Effects of spices on growth and survival of *Escherichia coli* 0157 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in broth model systems and mayonnaise. *Food Control* 13: 399–404.
- Miron, T., Rabinkov, A., Mirelman, D., Wilchek, M. dan Weiner, L. 2000. The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membrans may contribute to its biological activity. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1463: 20-30.
- Prasad, M.M. dan Seenayya, G. 2000. Effect of spices on the growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt. *Food Research International*. 33: 793-798.
- Quattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P. dan Bégin, A. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *Int. J. Food Microbiol.* 37: 155-162.
- Sibel, R. (Editor). 2003. *Natural Antimikrobias for the Minimal Processing of Foods*. Cambridge, GBR: Woodhead Publishing, Limited. Hal: 177.
- Skandamis, P. dan Nychas, G-J,E. 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physicochemical attributes of mince meat stored in air and modified atmospheres *Journal of Applied Microbiology*. 91: 1011– 1022.

- Skandamis, P., Tsigarida, E. dan Nychas, G.-J.E. 2002. The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5°C under aerobic, vp/map conditions. *Food Microbiology*. 19: 97– 103.
- Stecchini, M.L., Del Torre, M., Sarais, I., Saro, O., Messina, M. and Maltini, E. 1998. Influence of structural properties and kinetic constraints on *Bacillus cereus* growth. *Applied and Environmental Microbiology*. 64: 1075– 1078.
- Tassou, C.C., Drosinos, E.H. and Nychas, G.-J.E. 1996. Inhibition of the resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fillets in olive oil, oregano and lemon juice under modified atmosphere or air. *Journal of Food Protection*. 59: 31– 34.
- Tirranen, L.S., Borodina, E.V., Ushakova, S.A., Rygalov, V. YE., and Gitelson, J.I. 2001. Effect of volatil metabolites of dill, radish and garlic on growth of bacteria. *Acta Astronautica*. 49(2): 105–108.
- Tsigarida, E., Skandamis, P. dan Nychas, G.-J.E. 2000. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5°C. *Journal of Applied Microbiology*. 89: 901– 909.
- Ultee, A., Kets, E.P.W. dan Smid, E.J. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 65: 4606– 4610.
- van der Watt, E. dan Pretorius, J.C. 2001. Purification and identification of active antibacterial components in *Carpobrotus edulis* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 76: 87–91.
- Yin, M.C. and Tsa, S.M. 1999. Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. *Int. J. Food Microbiol.* 49: 49-56.
- Wilson, P.D.G., Brocklehurst, T.F., Arino, D., Thuault, M., Jakobsen, M., Lange, J.W.T., Farkas, J., Van, J.W.T., Wimpenny, J.F. dan Impe. 2002. Modelling microbial growth in structured foods: towards a unified approach. *International Journal of Food Microbiology*. 75: 273– 289.