

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KAPANG KONTAMINAN PADA JENANG YANG DIJUAL DI TRENGGALEK

Indriana Rahmawati, Utami Sri Hastuti, Syifa Sundari, Laily Maghfiro Kamil Mastika

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Malang

indrianarahmawati94@gmail.com

Abstrak: Jenang merupakan makanan yang terbuat dari kombinasi beberapa bahan diantaranya tepung ketan, gula merah, santan kelapa, dan tepung beras. Jenang memungkinkan dapat terkontaminasi oleh kapang. Nutrisi yang terkandung dalam bahan pembuatan jenang dapat digunakan oleh kapang untuk tumbuh dan berkembang. Jenang yang terkontaminasi oleh kapang menjadi tidak layak untuk dikonsumsi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies-spesies kapang kontaminan pada jenang yang dijual di Trenggalek yang disimpan selama 7x24jam. Sampel jenang sebanyak 10 gram dihaluskan kemudian dilarutkan dalam 90 mL larutan air pepton 0,1% sehingga diperoleh larutan sampel pada tingkat pengenceran 10^{-1} . Setelah itu dilakukan pengenceran secara bertingkat sehingga diperoleh pengenceran pada tingkat 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} . Sampel pada masing-masing tingkat pengenceran tersebut diinokulasikan sebanyak 0,1 mL pada medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA), kemudian diinkubasikan pada suhu 25-27°C selama 7x24 jam. Masing-masing koloni yang berbeda diisolasi dan diidentifikasi. Pembuatan preparat kapang dilakukan dengan menggunakan metode *slide culture*. Hasil pengamatan morfologi koloni dan mikroskopis dideskripsikan untuk keperluan identifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 5 spesies kapang kontaminan pada jenang yang dijual di Trenggalek, yaitu *Aspergillus nidulans* (Eidam) Vuill, *Penicillium digitatum* Sacc., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium chrysogenum* Thom., dan *Mycelia sterilla*.

Kata kunci: Kapang kontaminan, Jenang, Trenggalek

1. PENDAHULUAN

Trenggalek adalah salah satu kabupaten yang terletak di Provinsi Jawa Timur, Indonesia. Trenggalek memiliki jajanan khas salah satunya adalah jenang. Jenang merupakan makanan tradisional yang dibuat oleh pengrajin makanan olahan dan dijual dimasyarakat sebagai oleh-oleh. Bahan baku pembuatan jenang yaitu tepung ketan, gula merah, santan kelapa, dan tepung beras. Pemilihan bahan baku sangat penting dalam pembuatan makanan olahan karena kualitas bahan baku berpengaruh terhadap kandungan gizi yang terdapat dalam makanan dan tingkat keawetan.

Jenang termasuk makanan yang tidak memiliki daya tahan simpan lama, sehingga mudah terkontaminasi kapang. Hal tersebut didasarkan pada sifat jenang yang memiliki tekstur lembut dan cukup lembab. Nutrisi yang terkandung dalam bahan pembuatan jenang diantaranya karbohidrat, lemak, dan protein dapat digunakan oleh kapang untuk tumbuh dan berkembang. Beberapa spesies kapang kontaminan dapat mengkontaminasi makanan berbahan dasar tepung (Hastuti dkk., 2011).

Penyebab lain terjadinya kontaminasi kapang adalah tempat produksi yang kurang bersih serta pengemasan yang kurang baik. Pengemasan yang tidak rapat menyebabkan terjadinya kontaminasi spora kapang dari udara (Cowan, 2012).

Kapang yang mengkontaminasi makanan dapat mengakibatkan berbagai kerusakan antara lain: perubahan tekstur dan warna, terbentuk aroma yang tidak sedap, terjadi perubahan rasa; dan berkurangnya nutrisi yang terdapat dalam makanan. Kapang kontaminan berpotensi menghasilkan racun yang dikenal sebagai mikotoksin yang apabila masuk kedalam tubuh manusia dapat menyebabkan gangguan kesehatan berupa mikotoksikosis. Kontaminasi mikotoksin yang dihasilkan oleh spesies-spesies kapang kontaminan tertentu mengakibatkan makanan tidak layak dikonsumsi. (Hastuti dkk., 2011).

Berbagai genus kapang penghasil mikotoksin yang sering mengkontaminasi makanan antara lain; genus *Aspergillus* penghasil Aflatoxin dan Ochratoxin, genus *Penicillium* penghasil Ochratoxin, dan Patulin, serta genus *Fusarium* penghasil Trichotecene dan Fumonisin (Bennett dan Klich, 2003).

Aflatoksin bersifat karsinogenik. Penyakit yang disebabkan oleh aflatoksin adalah aflatoksikosis. Aflatoksikosis akut menyebabkan kematian, sedangkan aflatoksikosis kronis menyebabkan kanker, immunosupresif, dan kondisi patogenik lainnya. Organ target Aflatoksin adalah hati. Ochratoxin memiliki potensi yang sama dengan Aflatoksin. Organ target Ochratoxin adalah ginjal. Patulin menyebabkan degenerasi sel, peradangan, pendarahan, dan ulserasi. Trichotecene menyebabkan pendarahan pada saluran pencernaan, muntah, kerusakan jaringan hematopoiesis, dan infeksi kulit. Fumonisin menyebabkan kanker esofagus (Bennett dan Klich, 2003; Peraica, dkk 1999).

Efek mikotoksin tidak dapat dirasakan secara cepat karena mikotoksin bersifat kumulatif di dalam tubuh. Mikotoksin-mikotoksin tersebut merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang pada kondisi tertentu. Menurut Deacon (2006), metabolit sekunder dihasilkan oleh kapang pada akhir fase pertumbuhan eksponensial atau ketika nutrisi dalam medium pertumbuhan sudah menurun.

Merujuk pada hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya jenang yang dijual di Kabupaten Trenggalek memiliki batas waktu simpan selama 6 hari dengan nilai ALT sebesar $4,34 \times 10^2$ cfu/g. Nilai ALT tersebut telah melebihi batas maksimum cemaran kapang yang telah ditentukan oleh SNI 7388 : 2009 yaitu sebesar 2×10^2 cfu/g. Pada saat pengujian ALT tersebut, ditemukan beberapa koloni kapang kontaminan yang tumbuh di medium lempeng *Potato Dextrose Agar* (PDA). Koloni-koloni kapang kontaminan yang tumbuh belum diketahui nama spesiesnya, sehingga perlu untuk diidentifikasi. Apabila melalui penelitian ini dapat diketahui spesies-spesies kapang kontaminan penghasil mikotoksin yang sangat berbahaya bagi tubuh manusia, maka penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat agar lebih berhati-hati dalam membeli jajanan sejenis jenang tanpa merek, izin, dan masa kadaluwarsa.

2. METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang. Penelitian dimulai pada Bulan Februari sampai dengan April 2016.

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif yang bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi spesies-spesies kapang kontaminan pada jenang yang disimpan selama 6 hari.

Prosedur Penelitian

Persiapan suspensi dan pengenceran sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke - 0, ke-III, dan ke- VI. Perlakuan dilakukan dalam 4 ulangan. Sampel jenang diambil sebanyak 10 g untuk dihaluskan, lalu dilarutkan dalam 90 ml air pepton 0,1%, sehingga diperoleh tingkat pengenceran 10^{-1} . Setelah itu, diambil 1 mL kemudian di campur dengan 9 mL air pepton 0,1% maka diperoleh tingkat pengenceran 10^{-2} . Selanjutnya dilakukan pengenceran secara bertahap sehingga diperoleh tingkat pengenceran, 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} .

Inokulasi dan Inkubasi Sampel

Suspensi sampel dari masing-masing pengenceran diinokulasikan sebanyak 0,1 mL ke dalam medium lempeng *Potato Dextrose Agar* (PDA). Kemudian diinkubasi pada suhu 25-27°C selama 7 hari.

Isolasi Kapang Kontaminan

Setelah 7x24 jam masa inkubasi, maka akan terlihat pertumbuhan kapang pada masing-masing cawan. Kapang yang tumbuh tersebut selanjutnya diamati secara makroskopis meliputi warna koloni, diameter koloni, sifat koloni, dan warna bagian dasar koloni. Setelah pengamatan, dilakukan pembuatan biakan murni kapang kontaminan pada medium PDA miring.

Pembuatan Preparat dan Identifikasi Kapang Kontaminan

Identifikasi kapang kontaminan dilakukan dengan membuat preparat kapang kontaminan melalui metode *Slide culture*. Setelah preparat siap digunakan, dilakukan pengamatan ciri mikroskopis pada setiap isolat kapang kemudian dirujuk pada buku kunci identifikasi fungi yaitu *Pengenalan Kapang Tropik Umum* (Gandjar dkk., 1999) dan *Introduction to Food-Borne Fungi* (Samson dkk., 1984), untuk menentukan nama spesies kapang kontaminan yang berhasil diisolasi dari sampel jenang yang di jual di Trenggalek.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

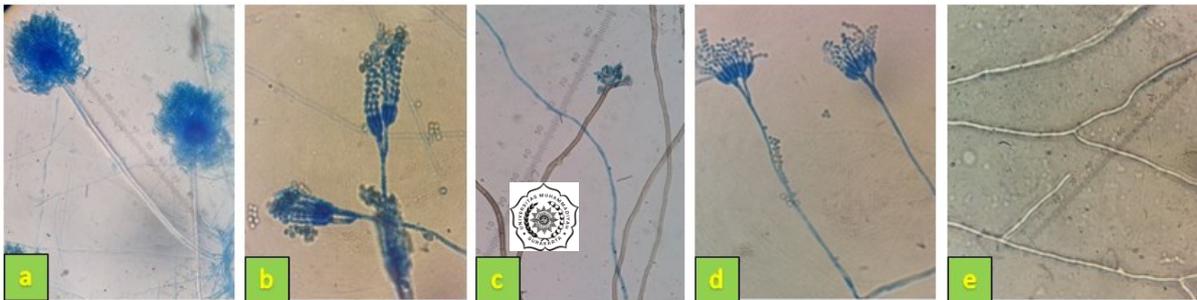
Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi ditemukan 5 spesies kapang yang mengontaminasi jenang yang dijual di kabupaten Trenggalek yaitu *Aspergillus nidulans* (Eidam) Vuill, *Penicillium digitatum* Sacc., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium chrysogenum* Thom., dan *Mycelia sterilla*. Berikut hasil deskripsi morfologi dan mikroskopis ke-5 spesies kapang kontaminan tersebut.

Aspergillus nidulans mempunyai ciri-ciri, yaitu koloni berwarna hijau tua, sifat koloni seperti serbuk, dan memiliki warna dasar koloni oranye kecoklatan. Hifa hyaline, bersekat, dan berdiameter 2 μm . Memiliki konidiofor yang ber dinding halus dengan ukuran panjang 170 μm dan diameter 6 μm . Vesikula berbentuk subglobose dengan ukuran diameter 12,5 μm . Panjang metula 6,25 μm . Fialida berbentuk clavate dengan ukuran panjang 3 μm . Konidia berwarna hijau, berbentuk bulat, ber dinding kasar, diameter konidia 2-3 μm dan memiliki tipe perumbuhan radiate (lihat Gambar 1a).

Penicillium digitatum mempunyai ciri-ciri, yaitu warna koloni hijau, sifat koloni seperti beludru, dan memiliki warna bagian dasar coklat muda. Hifa tidak bersekat dan berdiameter 2 μm . Panjang konidiofor 105 μm , bercabang tingkat 2, ber dinding halus, dan berdiameter 2 μm . Memiliki metula dengan ukuran 12,5 x 2,5 μm . Fialida berukuran 10 μm x 2,5 μm berbentuk ampuliform. Konidia berbentuk silindris, ber dinding halus, berwarna kehijauan, berdiameter 3,75 μm , dan memiliki tipe pertumbuhan kolumnar (lihat Gambar 1b).

Kapang *Cladosporium cladosporioides* mempunyai ciri-ciri, yaitu koloni berwarna hijau keabu-abuan, sifat seperti beludru, dan warna bagian dasar hitam kehijauan. Hifa berwarna coklat, memiliki sekat, dan berdiameter 5 μm . Konidiofor berwarna coklat, berukuran 185 μm x 5 μm , bercabang, dan dindingnya halus bersekat. Tidak memiliki geniculate, ukuran ramokonidia 12,5 μm x 5 μm , memiliki 0-1 sekat, berwarna coklat kehijauan, dan ber dinding halus. Konidia berbentuk ellips, ukuran konidia 6,25 μm x 2,5 μm , berwarna coklat, dinding sel halus, dan swelling 7,5 μm (lihat Gambar 1c).

Penicillium chrysogenum mempunyai ciri-ciri, yaitu warna koloni hijau kelabu, sifat koloni seperti beludru, dan memiliki warna khas bagian dasar kuning muda. Hifa hyaline, bersekat, diameter hifa 1 μm . Konidiofor berukuran 200 μm x 1 μm , bercabang tingkat 1, ber dinding halus. Metula berukuran 11 μm x 2,5 μm . Fialida berbentuk ampuliform, berukuran 9 μm x 2,5 μm . Konidia berbentuk globose, ber dinding kasar, diameter 2,5 μm , konidia berwarna kehijauan, dan memiliki tipe pertumbuhan kolumnar (lihat Gambar 1d). *Mycelia sterilla* memiliki ciri mikroskopis hifa berwarna putih dan bersifat kapas (lihat Gambar 1e).



Gambar 1. Hasil Pengamatan Mikroskopis Spesies-spesies Kapang Kontaminan pada Jenang yang di jual di Kabupaten Trenggalek. Ket: a. *Aspergillus nidulans*, b. *Penicillium digitatum*, c. *Cladosporium cladosporioides*, d. *Penicillium chrysogenum*, e. *Mycelia sterilla* (sumber : dokumen pribadi)

Beberapa spesies kapang kontaminan pada jenang yang telah diidentifikasi ternyata diketahui mampu menghasilkan mikotoksin yaitu kapang *Aspergillus nidulans* dan *Penicillium chrysogenum*.

Spesies kapang *Aspergillus nidulans* diketahui dapat menghasilkan mikotoksin berupa Sterigmatosystin. Sterigmatosystin dihasilkan oleh beberapa spesies kapang genus *Aspergillus*. Mikotoksin Sterigmatosystin juga mencemari beberapa bahan makanan, diantaranya jagung, keju, kedelai, dan pakan ternak (Versilovskis dan Saegar, 2009). Sterigmatosystin bersifat karsinogenik (Hicks *et al*, 1997), mutagenik, dan tumorigenik, namun potensinya lebih rendah dari pada Aflatoksin (Bennett dan Klich, 2003). *Aspergillus nidulans* diketahui sebagai kapang penghasil Sterigmatosystin terbesar kedua setelah *Aspergillus versicolor*. Kapang penghasil Sterigmatosystin dapat tumbuh baik pada suhu 20°C – 32°C, dengan suhu optimum 29°C, sehingga penyimpanan

jenang pada suhu dibawah 20°C sangat dianjurkan untuk menghindari kontaminasi kapang penghasil Sterigmatosistin (Makfoeld, 1993).

Spesies kapang *Penicillium chrysogenum* sering ditemukan pada gandum, tepung, dan beras (Makfoeld, 1993) serta dapat menghasilkan mikotoksin Citrinin (Reiss, 1977). Citrinin menyebabkan efek teratogenik yaitu perubahan formasi sel pada embrio (Singh, dkk 2014). Pemberian citrinin sebanyak 15 atau 30 µM dapat menyebabkan apoptosis dan penurunan jumlah sel blastosis pada embrio mencit (Chan dan Shiao, 2007). Spesies kapang kontaminan yang lain pada jenang yaitu *Penicillium digitatum*, *Cladosporium cladosporioides*, dan *Mycelia sterilla* sampai saat ini masih belum diketahui informasi ilmiah mengenai senyawa toksin yang dihasilkannya. Meskipun belum ada informasi, masyarakat harus tetap mewaspadaai terjadinya kontaminasi kapang baik pada bahan baku maupun pada makanan olahan terutama makanan olahan yang tidak memiliki tanggal kadaluwarsa.

Beberapa hal yang dapat menyebabkan kontaminasi kapang pada jenang diantaranya bahan baku yang digunakan dalam pembuatan jenang telah terkontaminasi oleh spora kapang. Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan jenang meliputi tepung beras, tepung ketan, santan kelapa, dan gula merah. Tepung beras dan tepung ketan dapat terkontaminasi kapang disebabkan oleh bahan dasar pembuatan tepung adalah biji beras dan biji ketan yang sebelumnya telah terkontaminasi kapang yaitu pada masa pertumbuhan biji, masa panen, masa penyimpanan, dan masa pengolahan biji menjadi tepung. Santan kelapa yang disimpan dalam wadah terbuka dalam waktu yang lama juga akan terkontaminasi kapang. Gula merah merupakan salah satu bahan yang dapat digunakan dalam pengawetan makanan. Larutan gula yang memiliki tingkat osmotik tinggi dapat menyebabkan plasmolisis sel mikroba (Salamah, 1996). Tingginya tekanan osmotik menyebabkan kondisi lingkungan yang hipertonis sehingga sel mengalami dehidrasi dan terjadi kematian sel. Sel yang disuspensikan dalam larutan hipertonis akan mengalami peristiwa pelepasan membran plasma dari dinding sel bakteri (plasmolisis) secara cepat, hal ini disebabkan karena terjadinya kehilangan air. Hal tersebut membuktikan bahwa gula (glukosa dan sukrosa) dapat berhasil terbunuh sel mikroba atau terhambat pertumbuhannya (Purnama dkk., 2013).

Gula merah berasal dari nira hasil penyadapan selama kurang lebih 10-12 jam. Selama penyadapan tersebut nira dapat terkontaminasi oleh mikroba, sehingga penambahan bahan pengawet kedalam nira baik alami maupun sintetik sangat diperlukan. Bahan pengawet alami seperti kulit manggis, laru janggut, remasan daun jambu mete dan mendidihkan nira sesegera mungkin, sedangkan bahan pengawet sintetik salah satunya yaitu kapur yang dapat mengontrol pH nira agar tetap tinggi (Kusuma, 1992).

Kontaminasi kapang pada bahan baku pembuatan makanan disebabkan oleh kandungan nutrisi yang terdapat pada bahan baku tersebut. Bahan baku pembuatan jenang yang meliputi tepung beras, tepung ketan, santan kelapa, dan gula merah mengandung nutrisi penting yang sangat diperlukan oleh kapang untuk tumbuh dan berkembang yaitu karbohidrat, protein, lemak, air, dan lain sebagainya. Selain nutrisi, faktor pH, O₂, dan suhu lingkungan sangat mempengaruhi pertumbuhan kapang. Semua kapang membutuhkan O₂, tumbuh pada kisaran pH yang luas yaitu 2-8,5 dan optimum pada pH asam, (Fardiaz, 1992), dan suhu optimum pertumbuhan kapang ialah sekitar 25-30°C (Kusuma, 2009; Susiwi, 2009)

Kontaminasi kapang dapat dicegah melalui beberapa cara yaitu, 1) memilih bahan baku yang berkualitas baik. Tepung yang rusak dapat dilihat dari perubahan warna dan adanya gumpalan, sedangkan santan yang rusak dapat dilihat dari bau yang tengik 2) menggunakan ruangan dan peralatan masak yang bersih, 3) pekerja dalam keadaan bersih, 4) bahan kemasan jenang harus bersih dan dalam keadaan baik. Apabila bahan pembungkusan rusak sebaiknya tidak memilih jenang tersebut.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah terdapat lima spesies kapang yang mengontaminasi jenang yaitu *Aspergillus nidulans*, *Penicillium digitatum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium chrysogenum* dan *Mycelia sterilla*.

Saran

Saran yang dapat disampaikan oleh penulis antara lain:

1. Perlu dilakukan penelitian sejenis yang bertujuan untuk mengetahui spesies-spesies kapang kontaminan pada jenis jenang lain yang tidak memiliki tanggal kadaluwarsa. Hal tersebut sangat penting untuk dilakukan

karena setiap spesies kapang kontaminan dapat menghasilkan mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan konsumen.

2. Bagi pengrajin dan konsumen jenang diharapkan mengetahui penyebab terjadinya kontaminasi kapang dan cara mencegah kontaminasi kapang.
3. Meskipun tidak memiliki merek dan tanggal kadaluwarsa, jenang sebagai makanan tradisional Indonesia harus tetap di jaga keberadaannya.

5. DAFTAR RUJUKAN

- Bennett, J.W dan Klich, M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16(3):497-516.
- Cowan, M. K. 2012. *Microbiology a Systems Approach Third Edition*. New York: McGraw-Hill.
- Chan, W.H dan Shiao, N.H. 2007. Effect of Citrinin on Mouse Embryonic Development in vitro and in vivo. *Reproductive Toxicology* 24(1): 120-125.
- Deacon, J.W. 2006. Fungal Biologi 4th Edition. Australia : Blackwell Publishing.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Umum.
- Gandjar, I., Samson, R., Vermeulen, K., Oetari, A., dan Santoso, I. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Hastuti, U. S., Dipu, Y. V., & Mariyanti. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Mikoflora Kapang Kontaminan pada Kue Pia yang Dijual di Kota Malang*. Biologi, sains, lingkungan, dan pembelajarannya menuju pembangunan karakter: kumpulan makalah seminar nasional VIII, Pendidikan Biologi FKIP UNS, Surakarta, 16 Juli.
- Kusuma, R.D. 1992. Mempelajari Pengaruh Penambahan Pengawet pada Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr) terhadap Mutu Gula Merah, Gula Semut, Sirup Nira, dan Gula Putih yang Dihasilkan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Kusuma, S. A. F. 2009. *Karya Ilmiah: Uji Biokimia Bakteri*. Sumedang: Universitas Padjadjaran Fakultas Farmasi.
- Makfoeld, D. 1993. *Mikotoksin Pangan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Peraica, M., Radic, B., Lucic, A., dan Pavlovic, M. 1999. Toxic Effect of Mycotoxins in Human. *Bulletin of the World Health Organization* 77(9):754-766.
- Purnama, W. B., Indrayudha, P., & Munawaroh, R. 2013. *Aktivitas Antibakteri Glukosa Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis dan Escherichia coli*, (Online), (<http://eprints.ums.ac.id>), diakses 2 Mei 2016.
- Reiss, J. 1977. Mycotoxins in Foodstuffs. x. Production of Citrinin by *Penicillium chrysogenum* in bread. *Food and Cosmetics Toxicology* 15(4):303-307.
- Salamah, E., Sukarsa, D.R., dan Damayanti, N.K. 1996. Pengaruh Konsentrasi Gula dan Garam terhadap Mutu Jambal Roti. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 2(2):25-30.
- Samson, Robert A., Hoekstra, Ellen., dan Van Ooeschol Connie, A N. 1981. *Introduction to food-born fungi*. Netherlands : Centraalbureau Voor Schimmelcultures.
- Singh, N.D., Sharma, A.K., Patil, R.D., Rahman, S., Leishangthem, G.D., dan Kumar, M. 2014. Effect of feeding graded doses of Citrinin on clinical and teratology in female Wistar rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 52:159-167.
- Susiwi, 2009. *Kerusakan Pangan*, (Online), (<http://file.upi.edu>), diakses 2 Mei 2016.
- Versilovskis, A dan Saegar, S. 2009. Sterigmatocystin: Occurrence in foodstuffs and analytical methods – An overview. *Molecular Nutrition and Food Research* 54(1): 136-147.
- Widodo, Wahyu. 2010. *Tanaman Beracun dalam Kehidupan Ternak*, (Online), (<http://wahyuwidodo.staff.umm.ac.id>), diakses 2 Mei 2016.