

INAKTIVASI ASKOSPORA *Talaromyces* sp. DALAM JUS NANAS MENGUNAKAN PROSES TERMAL

Doni Fozla¹⁾, Evelyn²⁾, Sri Rezeki Muria³⁾

¹⁾Mahasiswa Jurusan Teknik Kimia, ²⁾Dosen Jurusan Teknik Kimia, ³⁾Dosen Jurusan Teknik Kimia

Laboratorium Riset Enzim, Fermentasi dan Biomolekuler

Program Studi Teknik Kimia S1, Fakultas Teknik Universitas Riau

Kampus Bina Widya Jl. HR. Soebrantas KM 12,5 Pekanbaru, 28293

E-mail: fozladoni@yahoo.co.id

ABSTRACT

Talaromyces sp. is a heat resistance mold. *Talaromyces* sp. ascospore can survive after pasteurization and germinate in low pH fruit juices. Food preservation by thermal processing is a conventional treatment method and is still often applied today. The aim of this study was to investigate the effect of temperature (T: 85 °C, 88 °C, 91 °C) and soluble solid content (SS: 10 °Brix, 20 °Brix, 30 °Brix) on the thermal inactivation of *Talaromyces* sp. Ina-CC F155 ascospore. It was found that the ascospore log reduction increased with increasing temperature. For example, at SS; 10 °Brix there was a reduction of 2.5 log after 22.3 minutes for 85 °C, 14.3 minutes for 88 °C and 9.3 minutes for 91 °C. in contrast, increasing soluble solid content resulted in the increases of *Talaromyces* sp. ascospore resistance in pineapple juice. The results of this study emphasize the importance of temperature and soluble solid content for heat resistance of *Talaromyces* sp. ascospore in juice.

Keywords: ascospore, inactivation, pasteurization, thermal process, *Talaromyces* sp.

1. PENDAHULUAN

Talaromyces sp. adalah kelompok fungi yaitu kapang yang bersifat tahan terhadap panas (*heat resistance*) dan biasanya menjadi mikroorganisme pembusuk dalam beberapa produk pasteurisasi jus buah. Fungi ini banyak tersebar di tanah sehingga mudah terbawa pada permukaan buah-buahan dan sayuran. Sifat resistensi panas yang tinggi dari fungi ini sangat mengkhawatirkan karena dapat membentuk askospora dan mengkontaminasi olahan makanan dan minuman. Beberapa spesies dari *Talaromyces* sp. seperti *Talaromyces macrosporus* dan *Talaromyces wortmannii* diketahui menghasilkan mikotoksin yang dapat membahayakan

kesehatan manusia (Yilmaz, 2014). Konsumsi produk pangan yang terkontaminasi mikotoksin dapat menyebabkan terjadinya mikotoksikosis, yaitu gangguan kesehatan pada manusia dan hewan dengan berbagai bentuk perubahan klinis dan patologis, misalnya dapat menyebabkan penyakit kanker hati, degenerasi hati, demam, pembengkakan otak, ginjal, dan gangguan syaraf (Rahayu, 2006, dalam Miskiyah dkk., 2010).

Umumnya, olahan buah-buahan seperti jus, *puree*, sari buah, minuman buah berkonsentrat dan lainnya pada skala industri telah melewati proses pasteurisasi pada temperatur 65 °C-95 °C yang biasa digunakan untuk menginaktifkan atau membunuh seluruh mikroorganisme baik

sel vegetatif maupun spora yang menyebabkan pembusukan. Akan tetapi, spora-spora dari beberapa fungi termasuk askospora *Talaromyces* sp. bisa sangat sulit dimatikan dengan perlakuan panas ringan (pasteurisasi) bahkan ada yang tetap hidup setelah proses pemasakan (*cooking*) (Silva dkk., 2014). Oleh karena itu, diperlukan pengolahan yang tepat pada industri pengolahan buah-buahan terkhusus industri pengolaham jus nenas, mengingat Provinsi Riau mempunyai potensi penghasil buah nenas yang cukup tinggi menempati urutan keempat di wilayah Sumatera dengan jumlah total produksi mencapai 107 ribu ton per tahun (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2015).

Inaktivasi askospora *Talaromyces* sp. pada beberapa olahan buah-buahan dapat dilakukan dengan beberapa proses salah satunya dengan proses termal. Proses termal merupakan metode konvensional yang paling banyak diaplikasikan baik skala industri maupun skala rumah tangga hingga saat ini. Selain itu, kelebihan proses ini adalah sederhana, operasional yang murah dan dapat diaplikasikan oleh masyarakat luas.

2. BAHAN DAN METODOLOGI

2.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur fungi *Talaromyces* sp. (*type strain N-INACC F155*) koleksi INA-CC LIPI Jawa Barat, buah nenas, kentang, agar batang, *dextrose*, sukrosa 30%, asam sitrat 10%, alkohol 70%, spiritus, NaCl 0,85%, aqua DM. Alat yang digunakan adalah *waterbath*, termometer, *blender*, *autoclaf All America* model 1925/KY-23D, *vortex mixer* Genie 2TM, inkubator, *centrifuge*, mikropipet, *ependorf*, *blue tip*, *yellow tip*, lampu bunsen, batang L, pH meter,

refraktometer, jarum ose, cawan petri, *glass woll*, timbangan analitik, tabung reaksi serta bahan dan alat-alat standar laboratorium lainnya sesuai prosedur kerja.

2.2 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dibuat dengan cara kentang dikupas dan diiris kecil – kecil lalu ditimbang sebanyak 20 gram dan dicuci sampai bersih. Kentang direbus dengan menambahkan aqua DM sebanyak 100 ml sampai mendidih selama 20 menit. Kemudian, kentang disaring dan filtratnya diambil. Agar batang ditimbang sebanyak 1,7 gram dan *dextrose* ditimbang sebanyak 2 gram kemudian dimasukkan ke dalam filtrat dan ditambahkan aqua DM hingga volumenya 100 ml. Filtrat dipanaskan hingga larut sempurna. Larutan disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 20 menit pada tekanan 15 Psi dan temperatur 121 °C. Media PDA steril diletakkan dalam *waterbath* pada temperatur $\pm 60^{\circ}\text{C}$ dan ditambahkan asam sitrat 10% sebanyak 500 μl . Media PDA dituangkan ke dalam cawan petri hingga memadat dan diinkubasi selama 3 hari pada temperatur ruang untuk memastikan tidak ada tanda-tanda kontaminasi dan tidak ada uap air lagi (Benson, 2001).

2.3 Produksi Askospora *Talaromyces* sp.

Kultur murni fungi *Talaromyces* sp. diinokulasikan ke atas media PDA dan diinkubasi selama 4 minggu pada temperatur 37 °C (Hoffman, 2004). Askospora dipanen menggunakan aqua DM sebanyak 8 ml lalu disaring dengan *glass wool* dan filtratnya di sentrifugasi pada 4000 rpm dan temperatur 4 °C selama 10 menit. Langkah ini dilakukan sebanyak 3 kali. Sebanyak 1 ml suspensi diinokulasikan ke dalam 2 ml jus nenas

(pembuatan jus nanas secara konvensional) kemudian dilakukan *heat shock* menggunakan *waterbath* pada temperatur 75 °C selama 5 menit untuk menghitung jumlah koloni askospora awal (N0) yang diperkirakan adalah 10⁶-10⁷ cfu/ml (Katan, 1985).

2.4 Proses termal

Metode ini dilakukan pada tiga temperatur berbeda yaitu 85 °C, 88 °C dan 91 °C. Pertama, *waterbath* dipanaskan hingga temperatur 85 °C lalu sampel larutan inokulasi pada tabung reaksi SS:10 °Brix di masukkan ke dalam *waterbath* selama selang waktu tertentu yakni 0, 5, 8,7, 14, 22,3, 32,6 menit, lalu selang waktu 0, 5, 8,7, 14, 22,3 menit untuk temperatur 88 °C dan waktu 0, 5, 6,3, 9,3, 13,3 menit untuk temperatur 91 °C (Hoffman, 2004). Kemudian didinginkan dalam air es lalu dilakukan pencacahan askospora. Prosedur diulang dengan variasi SS jus 20 °Brix dan 30 °Brix, serta temperatur 88 °C dan 91 °C. Proses termal ini dilakukan sebanyak dua kali perlakuan.

2.5 Pencacahan Askospora

Suspensi askospora sebelum dan sesudah proses termal digunakan untuk penentuan konsentrasi awal dan akhir askospora. Penghitungan jumlah koloni dilakukan dengan metode *spread plate* (cawan sebar). Sebanyak 1 ml suspensi askospora dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl 0.85% lalu dihomogenkan, dipipet sebanyak 0,1 ml suspensi lalu di inokulasi ke media PDA dan diratakan dengan batang L. Media PDA selanjutnya diinkubasi pada temperatur 37 °C selama 3-5 hari hingga terbentuk koloni pada kisaran 20 hingga 100 koloni. Jika koloni lebih dari 100 maka dilakukan pengenceran bertingkat hingga ke pengenceran ke-tujuh. Tahap pencacahan ini dilakukan secara duplo (dua kali).

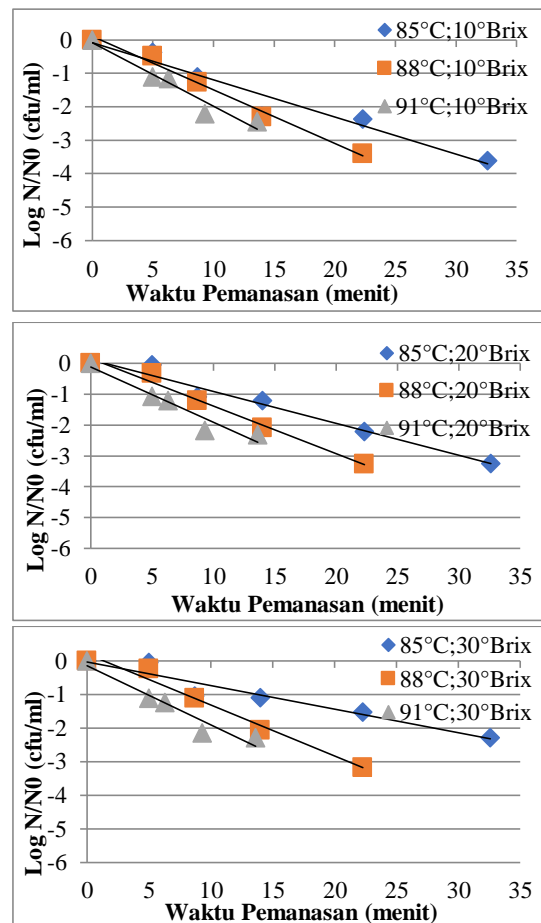
Koloni yang terbentuk dihitung secara manual dan dinyatakan dalam cfu/ml. Selanjutnya untuk melinearisasikan bilangan tersebut, maka dirubah kedalam bentuk log. Adapun perhitungan jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung dengan Persamaan 1 berikut (Chouhan, 2015).

$$\text{Koloni pr ml} = \frac{\text{Jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{volume sampel yang di pakai}}$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh Temperatur terhadap Reduksi Logaritmik Askospora *Talaromyces* sp.

Variasi temperatur yang digunakan untuk inaktivasi askospora *Talaromyces* sp. pada proses termal memberikan pengaruh yang cukup signifikan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Temperatur terhadap Reduksi Logaritmik Askospora *Talaromyces* sp.

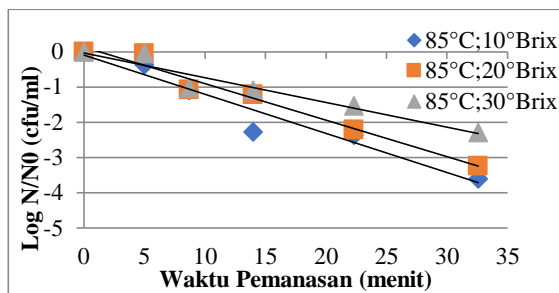
Berdasarkan Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa pengurangan log askospora *Talaromyces* sp. semakin cepat dengan meningkatnya temperatur. Misalnya, pada SS 10 °Brix terjadi pengurangan 2,5 log askospora dalam waktu 22,3 menit untuk temperatur 85 °C, waktu 14,3 menit untuk temperatur 88 °C dan waktu 9,3 menit untuk temperatur 91 °C (Gambar 4.1a). Begitu juga pada SS 20 °Brix terjadi pengurangan 2,5 log askospora dalam waktu 25 menit untuk temperatur 85 °C, waktu 16,3 menit untuk temperatur 88 °C dan waktu 13,3 menit untuk temperatur 91 °C (Gambar 4.1b). Kemudian pada SS 30 °Brix terjadi pengurangan 2,5 log askospora dalam waktu 38 menit untuk temperatur 85 °C, waktu 16,9 menit untuk temperatur 88 °C dan waktu 14,3 menit untuk temperatur 91 °C (Gambar 4.1c). Hasil penelitian yang diperoleh telah sesuai dengan penelitian terdahulu dimana pengurangan sebanyak 2,5 log askospora *Talaromyces flavus* di dalam jus apel selama ± 70 menit untuk temperatur 85 °C, waktu ± 55 menit untuk temperatur 86 °C, waktu ± 40 menit untuk temperatur 87 °C dan waktu ± 37 menit untuk temperatur 88 °C (Beuchat, 1988).

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dilihat bahwa peningkatan temperatur pemanasan sangat mempengaruhi laju pengurangan askospora *Talaromyces* sp. di dalam jus nanas. Besarnya jarak setiap interval waktu mengindikasikan bahwa temperatur pemanasan sangat berperan aktif dalam proses inaktivasi askospora, dimana pemberian panas dapat mempengaruhi komponen-komponen penyusun sel/spora. Menurut Coleman dkk., (2010) secara umum didalam inti spora terdapat *dipicolinic acid* (DPA) yaitu piridin-2,6-dikarbonat sekitar 25% dari berat inti

spora yang merupakan protein penyusun spora, dimana kematian askospora disebabkan oleh pelepasan DPA dari dalam inti. Namun, mekanisme pelepasan DPA dari dalam inti askospora *Talaromyces* sp. oleh panas tidak dipelajari dalam penelitian ini. Akan tetapi terdapat 3 buah kesimpulan penting mengenai mekanisme kematian spora oleh panas yaitu pertama, kehilangan senyawa DPA berlangsung lambat selama perlakuan panas; kedua, setelah kehilangan senyawa DPA ada perubahan mendadak dalam struktur protein spora; dan ketiga, spora masih dapat mempertahankan senyawa DPA sehingga spora masih bisa berkecambah. Dari ketiga kesimpulan diatas maka hal yang memungkinkan terjadi pada proses kematian askospora *Talaromyces* sp. oleh panas adalah adanya pelepasan DPA yang berlangsung secara lambat dan denaturasi protein sehingga dinding sel kehilangan nutrisi yang menyebabkan kematian pada askospora. Dengan kata lain, semakin tinggi panas yang diberikan (pada temperatur 85 °C, 88 °C dan 91 °C) maka akan semakin cepat proses inaktivasi askospora *Talaromyces* sp. di dalam jus nanas.

3.2 Pengaruh *Soluble Solid* (SS) atau Tingkat Kemanisan terhadap Reduksi Logaritmik Askospora *Talaromyces* sp.

SS merupakan total kandungan gula terlarut dari suatu larutan yang dalam hal ini adalah total kandungan gula sukrosa di dalam jus nanas. Variasi temperature SS yang digunakan untuk inaktivasi askospora *Talaromyces* sp. pada proses termal memberikan pengaruh yang cukup signifikan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Reduksi logaritmik askospora *Talaromyces* sp. terhadap variasi SS pada temperatur 85 °C, rata-rata dari 2 kali eksperimen.

Berdasarkan Gambar 4.2 (a) dapat dilihat waktu pengurangan sebesar 3 log askospora pada temperatur 85 °C; SS 10 °Brix terjadi selama 21,8 menit, selama 25,4 menit untuk SS 20 °Brix dan selama 35 menit untuk SS 30 °Brix. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi SS maka semakin *heat resistance* askospora *Talaromyces* sp. di dalam jus nanas. Artinya pada temperatur yang sama semakin tingginya SS maka semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk mengurangi populasi askospora. Sebagai perbandingan, pengurangan log askospora *Talaromyces flavus* pada 5 jenis produk buah yang berbeda meningkat dari 2,5 menit hingga 11,1 menit (meningkat secara signifikan) untuk derajat SS yang lebih tinggi: 0-60 °Brix pada temperatur 90 °C (King dan Whitehand, 1990). Pengurangan 3 log askospora juga ditunjukkan dari 5 jenis *strain* askospora *T.flavus* yang berbeda yaitu selama 5-12 menit pada temperatur 90 °C (King dan Halbrook, 1987). Kecenderungan seperti ini juga ditunjukkan oleh literatur lain dengan jenis kapang yang berbeda yaitu *Byssoschlamys* (Beuchat dan Toledo, 1977).

Secara umum, pembentukan askospora terjadi selama fase stationer setelah mengalami penurunan nutrisi tertentu dalam medium biakan atau lingkungan. Pembentukan askospora

Talaromyces sp. diamati setelah inkubasi selama 4 minggu di dalam inkubator pada temperatur 37 °C. Nutrisi yang ada pada media *potato dextrose agar* (PDA) berisikan sumber karbon, nitrogen dan fosfor (Benson, 2001). Sedangkan pada jus nanas berisikan air, protein, karbohidrat, gula, kalsium, dan sebagainya. Pada saat nutrisi yang ada pada PDA telah habis, *Talaromyces* sp. akan berkembang membentuk askospora (fase istirahat dari sel vegetatifnya). Askospora inilah yang menjadi target untuk melihat ketahanan nya terhadap panas dan variasi SS.

Penambahan sukrosa 30% kedalam jus nanas ditujukan untuk mendapatkan kandungan *soluble solid* (SS) hingga 30 °Brix. Penambahan ini tentu akan memperkaya nutrisi yang ada pada jus nanas sehingga akan merespon askospora untuk merubah bentuk ke sel vegetatifnya kembali. Pada saat yang sama jus nanas mendapatkan perlakuan panas dari luar lingkungan sehingga proses regenerasi sel ke bentuk vegetatifnya tidak terjadi. Ketahanan panas askospora *Talaromyces* sp. lebih tinggi daripada sel vegetatifnya. Hal inilah yang membuat askospora *Talaromyces* sp. sulit untuk dibunuh dan membutuhkan waktu yang lama untuk dapat menginaktivasinya.

Berdasarkan Gambar 4.2 (b) dan (c) pengurangan log askospora *Talaromyces* sp. pada temperatur 88 °C; SS 10 °brix, SS 20 °brix dan SS 30 °brix membutuhkan waktu yang lama dibandingkan pada temperatur 91 °C; SS 10 °brix, SS 20 °brix dan SS 30 °brix. Hal ini dikarenakan kenaikan temperatur dapat membunuh/mengurangi populasi askospora dengan cepat, akan tetapi kenaikan SS tidak begitu mempengaruhi pada temperatur 88 °C dan 91 °C.

4. KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini yaitu pengurangan log askospora *talaromyces* sp. semakin cepat dengan meningkatnya temperatur begitu juga dengan pengurangan log askospora berbanding lurus terhadap *soluble solid* (SS).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada dosen pembimbing dan lainnya yang bersangkutan yang telah memberikan masukan dan arahan serta bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Jenderal Hortikultura. 2015. *Statistik Produksi Hortikultura Tahun 2014*. Direktorat Jenderal Hortikultura. Jakarta.
- Benson, J. H. 2001. *Microbiological application: laboratory manual in General Microbiology*. 8th ed. The Mc-Graw-Hill Companies. New York.
- Beuchat, L. R. 1988. Thermal Tolerance of *Talaromyces Flavus* Askospore as affected by growth medium and temperature, age and sugar content in the inactivation medium. *Transaction of the British Mycological Society* 90(3): 359-364.
- Beuchat, L. R dan Toledo, R. T. 1977. Behaviour of *Byssochlamys nivea* ascospores in fruit syrups. *Transaction of the British Mycological Society* 68(1): 65-71.
- Chouhan, S. 2015. Enumeration and Identification of Standard Plate Count Bacteria in Raw Water Supplies. *Journal of Environmental Science* 9: 67-73.
- Coleman, W. H., Zhang, P dan Setlow, P. 2010. Mechanism of killing of spores of bacillus cereus and bacillus megaterium by wet heat. *Letter in Applied Microbiology* 50: 507-514.
- Hoffmann, M. V. G. D. S. 2004. Hoffmann, M. V. G. D. S. (2004). Estudo da resistência térmica de *Byssochlamys nivea* e *Talaromyces flavus* em suco de maçã. *Thesis*. Programa De Pós-Graduação Em Engenharia Química Departamento De Engenharia Química E Engenharia De Alimentos, Universidade de Campinas. Brazil.
- Katan, T. 1985. Heat activation of dormant ascospores of *Talaromyces flavus*. *Transaction of the British Mycological Society* 84: 748-750.
- King, A. D dan Halbrook, W. U. 1987. Ascospore heat resistance and control measures for *Talaromyces flavus* isolated from fruit juice concentrate. *Journal of Food Science* 52(5): 1252-1266.
- King, J. D. A dan Whitehand, C. L. 1990. Alteration of *Talaromyces flavus* heat resistance by growth conditions and heating medium composition. *Journal of Food Science* 55(3): 830-836.
- Miskiyah, Christina, W dan Wisnu, B. 2010. Kontaminasi mikotoksin pada buah segar dan produk olahannya serta penanggulangannya. *Jurnal Litbang Pertanian* 29(3): 81-82.
- Silva, F.V.M., Gibbs, P.A., Nunez, H., Almonacid, S dan Simpson, R. 2014. Introduction to Food Pasteurization and Historical Aspects. *Encyclopedia of Food Microbiology* 3: 577-595.
- Splittstoesser, D., Nielsen, P dan Churey, J. 1993. Detection of viable ascospores of *Neosartorya*. *Journal of Food Protection* 56: 599-603.
- Yilmaz, N., Visagie, C. M., Houbraeken., Frisvad, J. C dan Samson, R. A. 2014. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre* :205-208.