

INAKTIVASI TERMAL SPORA *TALAROMYCES sp.* BERUMUR 60 HARI DALAM JUS NANAS

Fryda Kusumawati Khoirunnisa¹⁾, Evelyn²⁾, Syelvia Putri Utami²⁾

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

Laboratorium Teknologi Bioproses

Program Studi Sarjana Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Riau

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

E-mail : fryda.kusumawati3001@student.unri.ac.id

ABSTRACT

Talaromyces sp. is a spore-forming fungi and has been identified as spoilage in fruit-based medium such as pineapple and tomato. The purpose of this study was to determine the effect of temperature on the thermal inactivation of *Talaromyces sp.* spores of 60 days in pineapple juice and determine D-value and z-value in the process of *Talaromyces sp.* in pineapple juice. It was shown that higher temperature resulted in the decreasing of time needed to inactivate the spores. The D-value obtained at temperatures of 80, 85, 90 °C were 67.11, 25.33, and 4.80 minutes. The following z-values were also obtained were 8,7 °C for 60 days age. The result of this study indicate the importance of temperature for the heat resistance of two-month old *Talaromyces sp.* spores in pineapple juice.

Keywords: inactivation, pineapple, resistance, spore, *talaromyces sp.*

1. PENDAHULUAN

Talaromyces sp adalah salah satu jamur yang ketahanan panasnya tinggi (*heat resistant*) dan biasanya menjadi mikroorganisme perusak pada makanan pasteurisasi ber-pH rendah (pH<4.6) (Pitt & Hocking, 1997). Jamur ini banyak tersebar di tanah sehingga mudah terbawa pada permukaan buah-buahan dan sayuran. Sifat resistensi panas yang tinggi dari jamur ini sangat mengkhawatirkan jika terkontaminasi pada olahan makanan dan minuman. Beberapa spesies dari *Talaromyces sp* seperti *Talaromyces macrosporus* dan *Talaromyces wortmannii* diketahui menghasilkan mikotoksin yang dapat membahayakan kesehatan manusia (Frisvad & Samson, 1991; Tournas, 1994). 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). King dan Halbrook (1987) melaporkan bahwa jamur *Talaromyces Flavus* terdapat dalam produk olahan buah seperti jus nanas. Oleh karena itu, diperlukan pengolahan yang tepat pada produk makanan dan minuman terkhusus pada industri pengolahan buah nanas.

Salah satu daerah penghasil buah nanas yang tinggi adalah Provinsi Riau, yaitu menempati urutan keempat dengan jumlah total produksi mencapai 1,7 juta ton per tahun (BPS, 2015). Melimpahnya produksi buah nanas tidak diikuti dengan pengolahan yang tepat, akibatnya banyak olahan buah nanas yang terkontaminasi mikroorganisme pembusuk sehingga umur simpan olahan nanas menjadi pendek. Pembusukan olahan produk minuman seperti jus nanas disebabkan oleh pertumbuhan dan aktivitas spora-spora yang dipengaruhi oleh dua faktor utama, yaitu (i) faktor intrinsik bahan pangan

yang meliputi ketersediaan zat gizi, ketersediaan air (aktivitas air/ a_w), nilai pH (keasaman) dan keberadaan senyawa mikroorganisme, serta (ii) faktor lingkungan meliputi temperatur, oksigen, kelembaban dan kebersihan (Hariyadi, 2010).

Teknik pengawetan jus buah yang umum dilakukan selama ini adalah teknik pasteurisasi *low temperature long time* (LTLT) pada suhu 65°C selama 30 menit (Hariyadi, 2010). Kondisi pasteurisasi ini belum tentu cukup untuk menginaktivasi spora dari *Talaromyces sp.*, sehingga jamur ini kemungkinan dapat tetap hidup dengan cara berkecambah dan tumbuh dalam produk jika mengkontaminasi buah-buahan dan merusak produk. Dengan kata lain, bahwa temperatur dan waktu pasteurisasi termal yang selama ini diterapkan belum disesuaikan pada ketahanan panas mikroorganismenya. Oleh karena itu, diperlukan informasi tentang ketahanan panas dari spora jamur yang memiliki ketahanan panas yang tinggi seperti *Talaromyces sp.* untuk perancangan proses pasteurisasi jus. Jika spora dari jamur yang *heat resistant* bisa diinaktivasi, maka spora mikroba lainnya yang memiliki ketahanan panas yang lebih rendah juga pasti akan mati.

2. BAHAN DAN METODOLOGI

2.1 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur jamur *Talaromyces sp.* koleksi INA-CC LIPI Cibinong Jawa Barat, kentang, agar batang, dextrose, asam sitrat, aqua DM, buah nanas alkohol dan spritus. Sedangkan alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *waterbath*, termometer, *Autoclaf All America* model 1925/KY-23D, *Vortex Mixer Genie 2TM*, inkubator, *blender*, *centrifuge*, mikropipet, lampu bunsen, batang L, pH meter, jarum ose, cawan petri, timbangan analitik, tabung reaksi dan alat-alat standar laboratorium lainnya sesuai prosedur kerja.

2.2 Produksi Spora *Talaromyces sp.*

Sporulasi ini menggunakan metode dari Evelyn dan Silva (2015a). Media *Potato Dextrose Agar (PDA)* dibuat dengan cara kentang dikupas dan diiris kecil – kecil lalu ditimbang sebanyak 20 gram dan dicuci sampai bersih. Kentang tersebut 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 agar batang larut. Setelah larut, larutan diautoklaf selama 20 menit pada tekanan 15 Psi dan suhu 121°C. Media PDA steril ditambahkan asam sitrat 10% sebanyak 1,25 ml. Media PDA dituangkan ke dalam cawan petri hingga memadat. Peremajaan spora jamur *Talaromyces sp.* diambil dari kultur murni menggunakan jarum ose yang sebelumnya telah disterilisasi. Penggoresan jarum ose dilakukan sedemikian rupa, sehingga ujung jarum ose hanya menyentuh diatas permukaan media. Spora dari jamur yang sudah diambil dengan jarum ose, diinokulasi ke atas media PDA. Media diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 30 °C untuk melihat pertumbuhan sel vegetatif dan dipastikan tidak ada tanda-tanda kontaminasi. Tahap sporulasi (pembentukan spora) dimulai dengan menginkubasi media PDA selama 30, 45, dan 60 hari pada suhu 30 °C. Setelah di inkubasi, spora dipanen dengan menuangkan 8 ml *aqua DM* ke dalam media PDA kemudian dihomogenkan. Lalu di *centrifuge* pada 4000 rpm, temperatur 4 °C selama 10 menit. Langkah ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Endapan spora kemudian disimpan pada suhu 2-4 °C hingga digunakan.

2.3 Proses Termal

Metode ini dilakukan pada tiga suhu berbeda yaitu 80, 85 dan 90 °C. Pertama, spora yang telah disimpan pada lemari pendingin diambil sebanyak 1 ml lalu di

inokulasi ke dalam 9 ml jus nanas. Penghitungan jumlah spora awal dalam jus nanas dilakukan dengan metode *spread plate*. Selanjutnya *waterbath* dipanaskan hingga temperatur 80 °C lalu sampel larutan inokulasi dengan spora berumur 60 hari dalam tabung reaksi dimasukkan ke dalam *waterbath* selama selang waktu tertentu. Kemudian dikeluarkan dan didinginkan dalam air es lalu dilakukan pencacahan spora yaitu untuk perhitungan jumlah spora setiap waktunya. Kemudian sampel-sampel didinginkan dalam air es lalu dilakukan penghitungan/pencacahan spora. Eksperimen diulang kembali pada masing-masing temperatur dua kali pengulangan eksperimen dengan sampel duplo tiap kalinya.

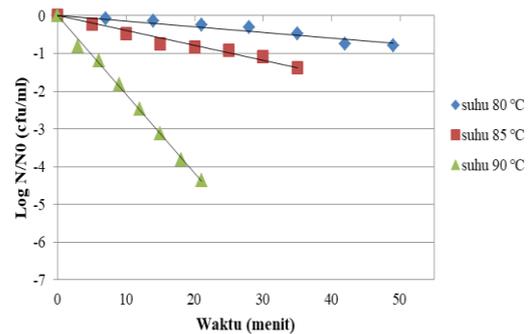
2.4 Pencacahan Spora

Suspensi dari inokulasi spora *Talaromyces sp* dan jus nanas hasil proses termal digunakan untuk penentuan konsentrasi spora atau jumlah koloni dengan metode *spread plate*. Sebelumnya dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan larutan NaCl. Sebanyak 1 ml suspensi spora dimasukkan kedalam 9 ml NaCl lalu dihomogenkan dan ditambahkan ke media PDA. Media PDA selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 hari hingga terbentuk koloni pada kisaran 10 hingga 100 koloni. Koloni yang terbentuk dihitung konsentrasinya dan dinyatakan dalam cfu/ml (Evelyn dkk, 2016).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

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

Pada penelitian ini menggunakan metode *spread plate* untuk pencacahan jumlah spora. Dalam proses termal tersebut digunakan 80 °C, 85 °C, dan 90 °C dengan umur spora 60 hari. Adapun hasil reduksi logaritmik spora akibat pengaruh temperatur dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Temperatur Terhadap Reduksi Logaritmik Spora *Talaromyces sp*. dalam Jus Nanas.

Berdasarkan Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa pengurangan log spora *Talaromyces sp*. semakin cepat dengan meningkatnya temperatur. Yaitu untuk mereduksi 1 log spora dalam jus nanas dibutuhkan waktu 67,11 menit pada temperatur 80 °C, 25,38 menit pada temperatur 85 °C, dan 4,80 menit pada temperatur 90 °C.

Sesuai dengan beberapa penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa semakin tinggi temperatur inaktivasi yang digunakan maka semakin cepat pengurangan jumlah spora. Aragao (1989) melakukan penelitian ketahanan panas jamur *Talaromyces flavus* dalam bubur strawberi, dan hasilnya menunjukkan untuk mereduksi 1 log spora *T. flavus* dibutuhkan waktu 18 menit pada temperatur 80 °C, 3,3 menit pada suhu 85 °C, dan waktu 0,9 menit pada suhu 90 °C. Hasil tersebut menunjukkan bahwa spora *T. flavus* tersebut memiliki tingkat resistensi terhadap panas yang lebih kecil dibandingkan spora *Talaromyces sp*. pada penelitian ini. Begitu juga pada penelitian Scott & Bernard (1987) tentang inaktivasi spora *T. flavus* dalam produk jus apel pada suhu 90,6 °C untuk mereduksi 1 log spora dibutuhkan waktu 2,2 menit lebih rendah tingkat resistensi panasnya dibandingkan penelitian ini. Pengaruh temperatur pada penelitian ini juga sesuai dengan penelitian Quintavalla dan Spotti (1993) tentang inaktivasi dengan spora yang berbeda yakni spora *Talaromyces macrospores*

dalam jus anggur dengan hasil untuk mereduksi 1 log spora pada suhu 90 °C membutuhkan waktu 2,4 menit. Namun, *Talaromyces sp.* pada penelitian ini juga lebih tahan panas dibandingkan dengan *Talaromyces macrospores* pada penelitian Quintavalla dan Spotti yaitu 4,80 menit pada penelitian ini.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dilihat bahwa peningkatan temperatur pemanasan sangat mempengaruhi laju pengurangan spora *Talaromyces sp.* di dalam jus nanas, dimana pemberian panas dapat mempengaruhi komponen-komponen penyusun sel/spora. Menurut Coleman dkk (2010) secara umum di dalam inti spora terdapat *dipicolinic acid* (DPA) yaitu piridin-2,6-dikarbonat sekitar 25% dari berat inti spora yang merupakan protein penyusun spora, dimana kematian disebabkan oleh pelepasan DPA dari dalam inti. Mekanisme kematian spora *Talaromyces sp.* oleh panas adalah adanya pelepasan DPA yang berlangsung secara lambat dan denaturasi protein sehingga dinding sel kehilangan nutrisi yang menyebabkan kematian. Sehingga apabila semakin tinggi panas yang diberikan maka akan semakin cepat proses inaktivasi spora *Talaromyces sp.* di dalam jus nanas. Namun, proses pengolahan juga harus mempertimbangkan efek atau pengaruh perlakuan panas terhadap kualitas jus nanas. Pada industri pengolahan jus buah, teknik pasteurisasi yang umum dilakukan adalah pada temperatur 90 °C selama 1,5 menit untuk jus nanas, temperatur 90-95 °C selama 15-30 detik untuk jus jeruk, dan 77-88 °C selama 25-30 detik untuk jus apel (Petruzzi dkk., 2017). Ini menandakan bahwa teknologi yang biasa digunakan di industri belum cukup untuk inaktivasi spora mikroorganisme (pada penelitian ini untuk mereduksi 1 log spora *Talaromyces sp.* pada temperatur 90 °C dibutuhkan waktu 2,89 menit). Sehingga diperlukan proses yang sesuai supaya proses inaktivasi dalam industri menghasilkan produk yang berkualitas.

3.2 Kinetika *First Order* (Nilai *D* dan *z*) Spora *B. subtilis*

Tabel 1. menunjukkan nilai *D* dan *z* spora *Talaromyces* berbagai makanan yang diperoleh dari perhitungan.

Referensi	Produk	Temperatur (°C)	Nilai <i>D</i> (menit)	Nilai <i>z</i> (°C)
Penelitian ini	<i>Pineapple Juice</i> (spora 30 hari)	80	53,76	7,87
		85	16,92	
		90	2,89	
	<i>Pineapple Juice</i> (spora 60 hari)	80	67,11	8,73
		85	25,38	
		90	4,80	
Beuchat (1988)	<i>Apple Juice</i>	80	66,65	8,33
		85	24,25	
		90	4,21	

Pada tabel 4.2 dapat dilihat bahwa ketahanan panas atau nilai *D* fungi *Talaromyces sp.* pada penelitian ini meningkat saat spora yang digunakan lebih tua, yaitu saat menggunakan temperatur inaktivasi 90 °C adalah 2,89 menit pada spora 30 hari dan 4,80 menit pada spora 60 hari. Sama halnya dengan nilai *z* yang semakin meningkat dengan bertambahnya umur spora. Tabel 4.2 juga menunjukkan bahwa *Talaromyces* memiliki ketahanan panas yang tinggi di dalam makanan. Ketahanan panas *Talaromyces sp.* pada penelitian ini sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Beuchat (1988). Hal ini menunjukkan bahwa ketahanan panas dapat dipengaruhi oleh *food matrix*. Dapat dilihat juga bahwa ketahanan spora atau nilai *D* berbanding terbalik dengan temperatur. Dimana dengan naiknya temperatur maka nilai *D* akan turun. Sehingga dapat disimpulkan bahwa temperatur pemanasan memiliki peranan penting dalam inaktivasi spora. Adapun hasil perolehan nilai *z* pada penelitian ini adalah 7,8-8,7 °C. Nilai *z* tersebut masih dalam rentang nilai *z* untuk jus buah pada umumnya, dimana nilai *z* untuk jus buah berada pada rentang 7,2–24,1 °C sedangkan nilai *z* untuk *buffer*

berada pada rentang 5,9 – 10 °C (Agcam dkk, 2018). Data-data yang diperoleh dari penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi untuk menghitung kecukupan termal pasteurisasi yang dibutuhkan dalam industri.

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pengurangan log spora *Talaromyces* sp. semakin cepat dengan meningkatnya temperatur dimana pada umur spora 60 hari untuk mereduksi 1 log spora dalam jus nanas dibutuhkan waktu 67,11 menit pada temperatur 80 °C, 25,38 menit pada temperatur 85 °C, dan dibutuhkan waktu 4,80 menit pada temperatur 90 °C. selanjutnya, Parameter *D-value* (ketahanan panas spora) berbanding terbalik dengan temperatur dimana dengan naiknya temperatur maka nilai *D* akan turun. Nilai *D* pada spora 60 hari untuk temperatur 80, 85, dan 90 °C berturut-turut adalah 67,11; 25,38; dan 4,80. Sedangkan nilai *z* yang diperoleh adalah 8,7 °C.

UCAPAN TERIMA KASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

- Agcam, E., Akyildiz, A & Dundar, B. 2018. Thermal Pasteurization and Microbial Inactivation of Fruit Juices. Cukurova University. Turkey.
- Aragão, G. M. F. 1989. Identificação e determinação da resistência térmica de fungos filamentosos termorresistentes isolados da polpa de morango. Universidade de Campinas, Brazil.
- Beuchat, L. R. 1986. Extraordinary heat resistance of *Talaromyces flavus* and *Neosartorya fischeri* ascospores in fruit products. *Journal of Food Science*. 51(6): 1506-1510.
- Beuchat, L. R. 1988. Thermal tolerance of *Talaromyces flavus* ascospores as affected by growth medium and temperature, age and sugar content in the inactivation medium. *Journal of Food Science*. 90 (3): 359-364.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2015. Produksi tanaman buah-buahan. Badan Pusat Statistika, Jakarta.
- Coleman, W. H., Zhang, P & Setlow, P. 2010. Mechanism of killing of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus megaterium* by wet heat. *Letter in Applied Microbiology* 50: 507-514.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2015a. Inactivation of *Byssoschlamys nivea* ascospores in strawberry puree by high pressure, power ultrasound and thermal processing. *International Journal of Food Microbiology*. 214: 129-136.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2015b. High pressure processing of milk: modeling the inactivation of *Bacillus cereus* spores at 38–70°C. *Journal of Food Engineering*. 165: 141-148.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2015c. Thermosonication versus thermal processing of skim milk and beef slurry: modeling the inactivation kinetics of psychrotrophic *Bacillus cereus* spores. *Food Res. Int.* 67: 67-74.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2015d. Use of power ultrasound to enhance the thermal inactivation of *Clostridium perfringens* spores in beef slurry. *International Journal of Food Microbiology*. 206: 17-23.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2016a. High pressure thermal processing for the inactivation of *Clostridium perfringens* spores in beef slurry. *Innov. Food Science. Emerg. Technol.* 33: 26-31.
- Evelyn, Kim, H. J & Silva, F. V. M. 2016. Modeling the inactivation of *Neosartorya fischeri* ascospores in apple juice by high pressure, power ultrasound and thermal processing. *Food Control*. 59: 530-537.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2016b. High pressure processing pretreatment

- enhanced the thermosonication inactivation of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in orange juice. *Food Control*. 62: 365-372.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2016c. Modeling the inactivation of psychrotrophic *Bacillus cereus* spores in beef slurry by 600 MPa HPP combined with 38–70 °C: comparing with thermal processing and estimating the energy requirements. *Food Bioprod Process*. 99: 179-187.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2017a. Resistance of *Byssoschlamys nivea* and *Neosartorya fischeri* mould spores of different age to high pressure thermal processing and thermosonication. *Journal of Food Engineering*. 201: 9-16.
- Evelyn, Milani, E. & Silva, F. V. M. 2017b. Comparing high pressure thermal processing and thermosonication with thermal processing for the inactivation of bacteria, moulds, and yeast spores in foods. *Journal of Food Engineering*. 214: 90-96.
- Evelyn & Silva, F. V. M. 2017c. Differences in the resistance of microbial spores to thermosonication, high pressure thermal processing and thermal treatment alone. *Journal of Food Engineering*, In Press.
- Fozla, D, Evelyn, & Muria, S. R. 2018. Inaktivasi Askospora *Talaromyces sp.* dalam Jus Nanas Menggunakan Proses Termal. *Jom FTEKNIK*. 5(2) : 2-5.
- Frisvad, J. C & Samson, R. A. 1991. Mycotoxins produced by species of *penicillium* and *aspergillus* occurring. In *cereal grain: Mycotoxins, fungi and quality in drying and storage*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 441-476.
- Hariyadi, P. 2010. *Susu: Berbagai Sumber Nutrisi Pertumbuhan Anak*. Yayasan Penerbitan Ikatan, Jakarta.
- King, J. D. A & 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.
- Petruzzi, L., Corbo, M. R., Sinigaglia, M & Bevilacqua, A. 2017. *Microbial Spoilage of Foods: Fundamentals*. University of Foggia. Italy.
- Pitt, J. I & Hocking, A. D. 1997. *Fungi and food spoilage*, 2nd edn. Blackie Academic and Professional, London.
- Quintavalla, S & Spotti, E. 1993. Heat resistance of *Talaromyces flavus*, *Neosartorya fischeri* and *Byssoschlamys nivea* isolated from fresh fruits. *Microbiology Aliments Nutrition*. 11: 335-341.
- Scott, V. N & Bernard, D. T. 1987. Heat resistance of *Talaromyces flavus* and *Neosartorya fischeri* from commercial fruit juices. *Journal of Food Protection*. 50: 18-20.
- Tournas, V. 1994. Heat-resistant fungi of importance to the food and beverage industry. *Critical Reviews in Microbiology*. 20(4): 243-263.