



Populasi dan Jenis Mikroba Kontaminan pada Biji Kakao Kering Fermentasi dari Jembrana, Bali

Dewa Ayu Komang Tri Aprilliani*, Dewa Ngurah Suprpta, I Made Sudarma

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana,
Jl. PB Sudirman, Denpasar Bali 80231, Indonesia

*Corresponding author: tri.aprilliani054@student.unud.ac.id

ABSTRACT

Population and Types of Microbial Contaminants in Dry Fermented Cocoa Beans from Jembrana, Bali. Jembrana, Bali is a district that produces cocoa beans, but there was a decline in production in 2020-2021. One of the causes is microbial contamination that can reduce the quality of the beans. The aim of this study was to determine the population and types of contaminant microbes and the types of microbes that dominate dry fermented cocoa beans. The methods in this research were isolation of microbes contaminations in dry fermented cocoa beans by dilution method and identification of the type of microbes contaminant using macroscopic and microscopic observation. Sampling was taken randomly in 6 different villages namely Pulukan, Nusa Sari, Poh Santen, Tegal Cangkring, Penyaringan and Yehembang villages. Identification was done by observing macroscopic and microscopic characteristics. Population data were analyzed using one way ANOVA. The highest population number was found in sample 2 of Nusa Sari Village with colonies 270×10^4 CFU/g. The lowest population was found in sample 4 taken from Tegal Cangkring Village with a population of 5×10^4 CFU/g of fermented dry cocoa beans. Types and numbers of microbes that dominate samples are *Saccharomyces* sp. $173,3 \times 10^4$ CFU/g, *Aspergillus* sp. $156,6 \times 10^4$ CFU/g, *Rhizopus* sp. 90×10^4 CFU/g, *Penicilium* sp. 15×10^4 CFU/g, *Mucor* sp. 10×10^4 CFU/g and *Chrysosporium* sp. 5×10^4 CFU/g. Based on the maximum limit of the Indonesian National Standard (SNI) number SNI 7388:2009, six samples from Jembrana Bali have not passed SNI.

Keywords: fermented cocoa beans, dominance, contaminant, fungal populations

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas ekspor Indonesia selain minyak dan gas. Menurut Wahyudi *et al.* (2008) Indonesia merupakan produsen kakao terbesar ketiga di dunia setelah Pantai Gading dan Ghana. Mutu biji kakao Indonesia masih relatif rendah dan belum memenuhi persyaratan yang dianjurkan SNI 2323:2008/Amd1:2010.

Kurangnya penanganan pasca panen kakao, khususnya fermentasi Proses fermentasi biji kakao yang berperan penting dalam produksi biji kakao bermutu untuk berbagai produk coklat dan produk lain yang terbuat dari biji kakao.

Jumlah produksi kakao fermentasi di salah satu pengepul kakao fermentasi di Jembrana pada tahun 2020 mencapai 44.691,3 kg dan 21.068,8 kg pada tahun 2021. Penurunan ini disebabkan oleh faktor

iklim menyebabkan panen kakao ditingkat petani menurun, serta banyaknya biji kakao yang tidak lolos sortasi. Penanganan pasca panen biji kakao fermentasi sangat rentan terjadinya kerusakan biji. Salah satunya adalah pertumbuhan dari mikroba kontaminan. Berdasarkan data statistik perkebunan, Provinsi Bali memiliki luas perkebunan kakao 13.609 hektar dengan produksi yang dihasilkan pada tahun 2022 sebesar 4.736 ton (BPS Provinsi Bali, 2023).

Pengepul kakao fermentasi di Jembrana mengonfirmasi adanya berjamur pada biji kakao kering setelah fermentasi maupun setelah disimpan. Terutama pada musim penghujan. Biji yang sudah berjamur tidak lolos sortasi dan dijual dengan harga murah karena termasuk ke dalam grade yang paling rendah. Tujuan dari penelitian ini adalah (1) Mengetahui populasi jamur kontaminan pada biji kakao kering fermentasi dari Jembrana, Bali. (2) Mengetahui jenis jamur kontaminan pada biji kakao kering fermentasi. (3) Mengetahui jenis jamur yang mendominasi kontaminan pada biji kakao kering fermentasi di Jembrana Bali, dan 4) Mengetahui biji kakao dalam memenuhi standar SNI.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan bulan November 2023 sampai bulan Maret 2024. Sampel diambil dari 6 desa di Jembrana yaitu Desa Pulukan, Nusa Sari, Poh Santen, Tegal Cangkring, Penyaringan dan Yehembang. Isolasi dan Identifikasi dilakukan di Laboratorium Biopestisida, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana. Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan Petri, tabung erlenmeyer,

timbangan elektrik, gelas ukur, autoklaf, *Laminar Air Flow*, lampu busen, kompor, mikroskop, mikropipet, kaca preparat, pinset, kertas label, plastik, pisau, gunting, kamera, *hand sprayer*, jarum ose, *cork borer*, tissue steril, kertas saring, *nare plasti*, *vortex* dan mikroskop. Sedangkan bahan yang digunakan adalah sampel biji kakao kering fermentasi, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), alkohol 70 %, dan air steril.

Isolasi Kontaminan pada Biji Kakao Kering Fermentasi

Isolasi jamur dengan metode pengenceran bertingkat 2,5 g sampel biji kakao yang sudah di gerus halus, dilarutkan dalam 25 ml air aquades. Lalu larutan tersebut dipipet sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air akuades, dengan perbandingan 1:9. Pengenceran bertingkat pada isolasi ini yaitu 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} . Masing-masing pengenceran dituang 200 μ l ke dalam cawan petri yang sebelumnya di tambah media PDA untuk setiap cawan petri diberikan kode berdasarkan urutan sampel, pengenceran, dan tanggal. Selanjutnya diinkubasi selama 72 jam dalam suhu ruang. Lalu dilakukan perhitungan koloni sebelum dilakukan isolasi.

Menghitung Koloni Mikroba

Koloni yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter* kemudian jumlah koloni yang terhitung dimasukkan dalam rumus perhitungan *total plate count*. Menurut Pradikaningrum (2015) Rumus perhitungan untuk mendapatkan jumlah sel (CFU/ml) yaitu:

$$\text{Jumlah CFU/ml} = \frac{\text{Jumlah koloni yang tumbuh}}{\text{Volume inokulum yang disebar} \times \text{faktor pengenceran}}$$

Hasil perhitungan dalam satuan CFU/ml dikalikan dengan jumlah volume

pengenceran pertama (ml) dan dibagi dengan berat biji sampel (g). Perhitungan akhir

didapatkan jumlah populasi koloni dalam satuan CFU/g.

Pemurnian Mikroba Isolat

Pemurnian mikroba isolat dilakukan 3 hari setelah pengenceran untuk mendapatkan jenis mikroba murni. Media yang digunakan adalah media PDA, sebelum mengisolasi mikroba dilakukan perhitungan koloni dan pemilihan mikroba yang akan di isolasi. Pengerjaan dilakukan di dalam laminar, koloni mikroba diambil menggunakan cokboar dan diletakan pada bagian tengah petri yang sudah berisi media. Minimal 1 jenis mikroba di isolasi dalam 3 cawan petri. Beri label tanggal serta keterangan sampel yang diambil. Inkubasikan selama kurang lebih 7 hari untuk di lakukan proses identifikasi.

Peremajaan dilakukan untuk memperbanyak dan meremajakan jamur. Isolat jamur murni yang akan diremajakan diambil menggunakan cokboar atau pisau skapel kemudian di letakan pada bagian tengah petri yang sudah berisi media PDA.

Identifikasi Makroskopis dan Mikroskopis

Identifikasi dilakukan dengan biakan murni berdasarkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis dilakukan untuk melihat ciri-ciri dan karakter morfologi jamur kontaminasi. Ciri yang diamati adalah warna, tipe pesebaran, dan tekstur. Sedangkan untuk identifikasi secara mikroskopis dilakukan dibawah mikroskop binocular pada pembesaran 100x dan 400x lensa objektif dengan melihat badan buah, bentuk spora, dan hifa dari jamur kontaminasi. Identifikasi ini akan mengacu pada buku Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria 1983, Illustrated Genera Of Imperfect Fungi (Barnett dan Hunter, 1998) dan sumber terkait.

Analisis Data

Semua data yang diperoleh dianalisa secara kuantitatif menggunakan *analysis of varians* (ANOVA) pada taraf 5%. Apabila antara lokasi sampel yang ambil terdapat perbedaan pengaruh yang nyata jumlah koloni, maka dilanjutkan dengan uji Duncan *Multiple Range Test* taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koloni Jamur Kontaminan Pada Biji Kakao Kering Fermentasi

Tabel 1. Total jumlah koloni mikroba kontaminan pada biji kakao terfermentasi dari 6 desa di Kabupaten Jembrana

Nomor sampel	Lokasi pengambilan (Desa)	Populasi koloni (10^4 CFU/g)	Masa simpan sampel setelah penjemuran
1	Pulukan	56,6 b	8 hari
2	Nusa Sari	270 d	5 hari
3	Poh Santen	55 ab	20 hari
4	Tegal Cangkring	5.0 a	15 hari
5	Penyaringan	6,6 a	13 hari
6	Yehembang	165 c	18 hari

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%

Populasi mikroba kontaminan pada biji kakao kering fermentasi paling tinggi pada sampel 2 yang berasal dari Desa Nusa Sari dengan populasi koloni 270×10^4 CFU per gram biji kakao kering fermentasi dan populasi koloni terkecil pada sampel 5 dengan jumlah 5×10^4 CFU/ per gram biji sampel (Tabel 1).

Hasil analisis Anova satu arah, sampel 2 memiliki pengaruh berbeda nyata dengan sampel 1, 3, 4, 5 dan 6. Sampel 2 dari Desa Nusa Sari memiliki biji kakao yang difermentasi selama 6 hari dengan 5 hari masa simpan di gudang rumah. Jarak antara waktu pengambilan sampel dan fermentasi yang singkat kemungkinan menyisakan mikroba fermentor pada biji kakao fermentasi. Berdasarkan informasi dari tiap petani dari enam desa di Jembrana, tidak melakukan pengukuran kadar air dalam biji sebelum disimpan dalam gudang. Petani menggunakan terpal sebagai alas untuk menjemur biji kakao di bawah sinar matahari. Setelah kurang lebih empat sampai enam hari, biji kakao yang sudah terlihat kering langsung disimpan ke dalam karung.

Penjemuran tidak sempurna diakibatkan oleh intensitas sinar matahari yang tidak stabil setiap harinya. Cuaca berawan dan langit mendung mengurangi intensitas sinar matahari menyebabkan kadar air biji kakao tetap tinggi. Wangge *et al.* (2012) menyatakan pengeringan biji kakao yang tidak maksimal akan mengakibatkan tumbuhnya jamur penghasil okratoksin seperti spesies *Aspergillus niger*.

Sampel 6 memiliki populasi mikroba tinggi dengan 18 hari masa simpan. Penyimpangan fisik pada proses penyimpanan biji kakao merupakan faktor krusial karena biji kakao kering bersifat higroskopis sehingga kadar air permukaan dapat berubah sesuai dengan kelembaban udara sekelilingnya. Kadar air dari biji kakao yang disimpan harus dicek secara berkala dan dipertahankan dibawah 8% (Codex,

2013). Sampel 4 dan 5 memiliki pengaruh yang tidak beda nyata walaupun dalam masa simpan yang cukup lama.

Hasil Identifikasi Makroskopis dan Mikroskopis Jamur Kontaminan Biji Kakao Kering Fermentasi

Sampel 1 (Pulukan)

a. *Mucor* sp



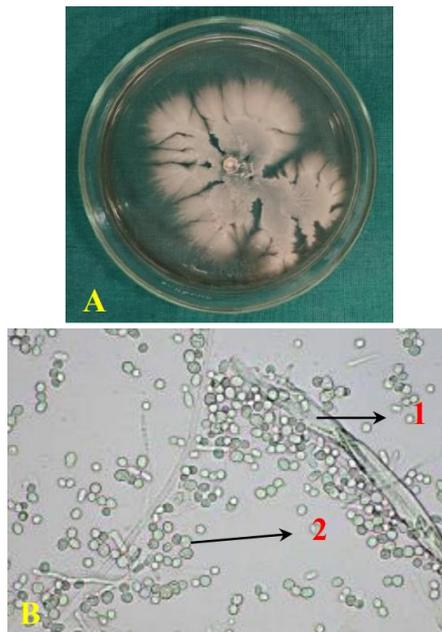
Gambar 1. Jamur *Mucor* sp. pada sampel 1; A. Koloni jamur pada media PDA. dan B.

Karakteristik mikroskopis (pembesaran 400x). (1) Sekat pada hifa, (2) Sporangiosfor, (3) Sporangium (10 μ m)

Gambar 1 menunjukkan Jamur *Mucor* sp. dengan makroskopis koloni dan warna dasar coklat keabuan. Tipe penyebaran menyebar keseluruh petri. Bentuk koloni bulat dengan tepian berserat dan rata menyebar keseluruh petri. Tekstur permukaan kasar dan berserabut seperti kapas dengan ketebalan timbul-datar pada permukaan petri. Hifa jamur hialin dan tidak bersekat. Sporangiosfor bersekat, berbentuk

tegak dan melengkung, ramping dan tidak bercabang. Tidak di temukan stolon dan rhizoid pada sporangiosfore. Sporangium membentuk bulatan sampai membentuk kubah yang berada di ujung sporangiosfor. Sporangiospora tidak berwarna, berbentuk bulat dan oval dengan diameter 1,298 – 1,560 μm .

b. *Saccharomyces* sp



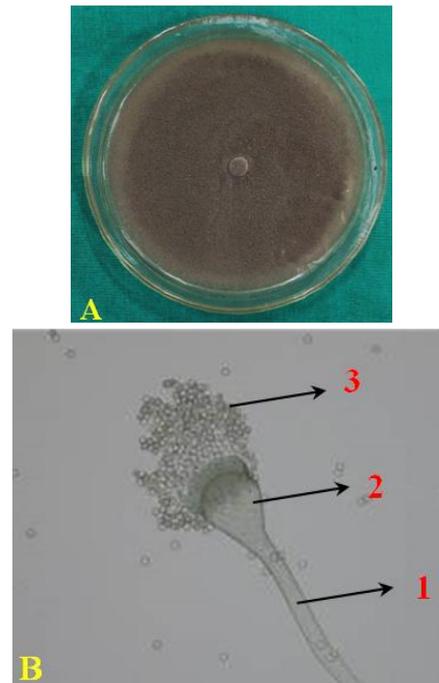
Gambar 2. Jamur *Saccharomyces* sp. pada sampel 1; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x). (1) Hifa, (2) Hifa terfragmentasi, (3) mikrokonidia (10 μm)

Gambar 2 menunjukkan warna koloni dari jamur *Saccharomyces* sp. sampel 1 putih sampai transparan dan sedikit mengkilap dengan bentuk koloni tak teratur. Bagian tepi koloni terlihat meruncing membentuk serat atau berbenang dengan warna semakin transparan. Tekstur permukaan halus dan rata. Hifa dari jamur *Saccharomyces* sp. memiliki sekat dan tidak memiliki warna. Hifa berbentuk tegak dan sedikit melengkung dan dari sekat tersebut akan terfragmentasi menjadi hifa baru. Bentuk dari hifa yang

terfragmentasi mulai dari oval sampai batang dengan ukuran yang berbeda-beda. Panjang dari hifa yang terfragmentasi sekitar 1,605 – 4,329 μm dengan lebar 1,047 – 1,342 μm .

Sampel 2 (Nusa Sari)

a. *Aspergillus niger*

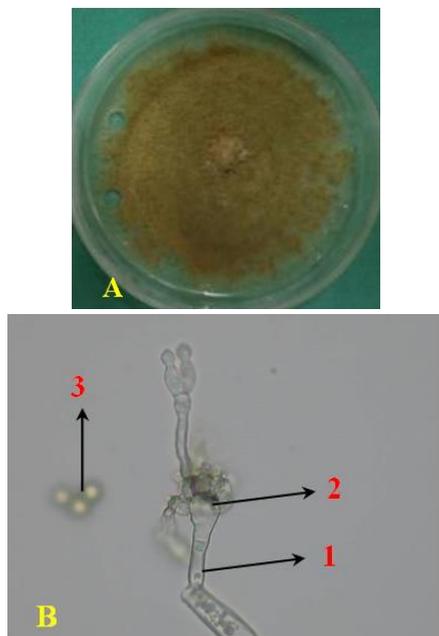


Gambar 3. Jamur *A. niger* pada sampel 2; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakter mikroskopis (perbesaran 400x). (1) Konidiofor, (2) Vesikel, (3) Konidia (10 μm)

Gambar 3 menunjukkan karakteristik jamur yang ditemukan menyerupai *Aspergillus niger* yaitu koloni jamur berwarna coklat kehitaman, tepi kuning kecoklatan, bagian dasar berwarna lebih gelap. bentuk koloni bulat, berbentuk utuh, dasar berwarna lebih gelap. Tekstur permukaan beludru menyebar ke seluruh petri dengan elevasi cembung dari permukaan petri. Hifa bersekat dan hialin. Memiliki vesikel dan konidiafor tidak bersekat, berbentuk memanjang, ramping, sederhana dan tidak bercabang. Konidia

berwarna hijau kecoklatan, berbentuk bulat dengan ukuran 0,893 – 1,014 μm .

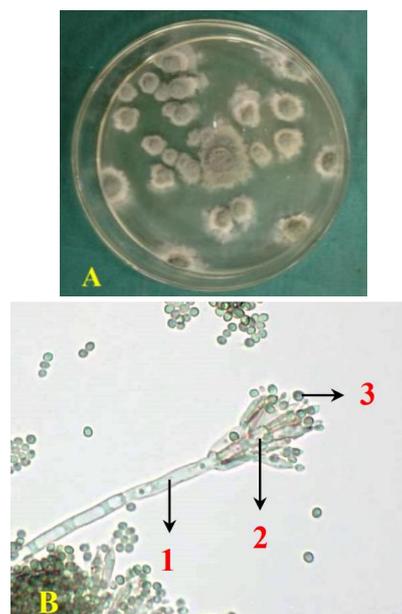
b. *Aspergillus fumigatus*



Gambar 4. Jamur *A. fumigatus* pada sampel 2.; Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x) (1) Konidiofor, (2) Vesikel, (3) Konidia (10 μm)

Gambar 4 menunjukkan koloni jamur yang kemungkinan adalah jamur *Aspergillus fumigatus* dengan koloni hijau kecoklatan, tepi putih, warna dasar coklat. Bentuk koloni jamur *Aspergillus* ini tidak teratur. Tekstur permukaan menyerupai beludru menyebar keseluruh permukaan petri. Elevasi dari koloni terlihat timbul-rata dengan tepian koloni berserat, hifa bersekat dan hialin. Vesikel dan konidiafor tidak bersekat, berbentuk tegak ramping dan tidak bercabang. Konidia hijau muda sampai hijau gelap, berbentuk bulat, dengan posisi bergerombol pada ujung konidiafor. Diameter konida berkisar 0,926 – 1,014 μm .

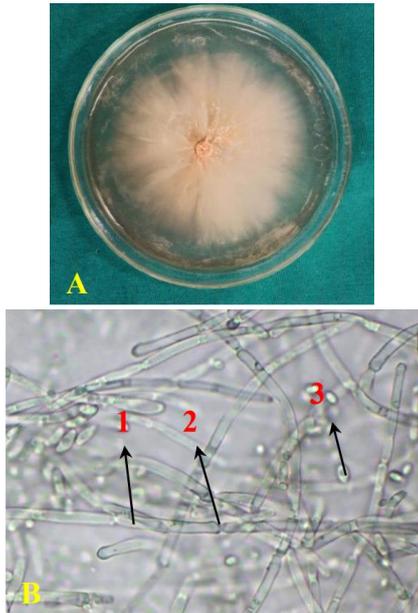
c. *Penicillium digitatum*



Gambar 5. Jamur *P. digitatum* pada sampel 2; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x). (1) Konidiofor, (2) Fialid, (3) Konidia.

Gambar 5 menunjukkan Jamur *P. digitatum* dengan warna koloni hijau tua, tepian putih dengan dasar coklat. Bentuk koloni bulat sampai oval berukuran sedang dengan spot pesebaran acak. Tekstur permukaan kasar menyerupai beludru tepian putih berserat serta elevasi cembung. Diperkirakan spesies jamur yang ditemukan adalah *Penicillium digitatum*. Hifa *Penicillium* memiliki hifa bersekat dan hialin. Konidiafor tegak, ramping, juga ada yang sedikit melengkung, serta bercabang. fialid dan konidia yang hialin dengan bentuk bulat dengan diameter panjang berkisar 0,953 – 1,167 μm dan lebar 0,962 – 1,068 μm . Konidia membentuk gerombolan memanjang dengan membentuk untaian panjang.

e. *Saccharomyces* sp.

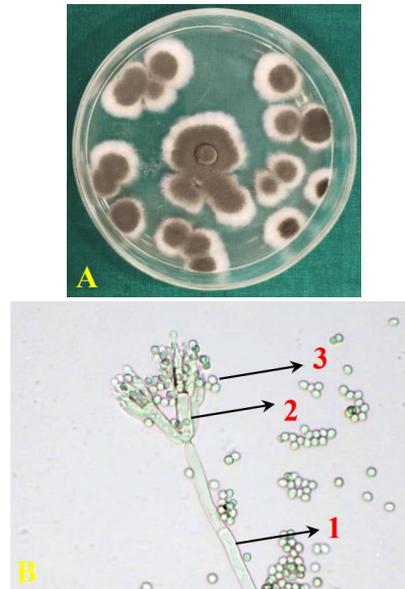


Gambar 6. Jamur *Saccharomyces* sp. pada sampel 2; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x). (1) Hifa, (2) mikrokonidia, (3) Hifa yang terfragmentasi (10 μ m).

Gambar 6 menunjukkan Jamur *Saccharomyces* sp. dengan warna koloni mikroba putih tulang, bagian tengah krem sedangkan warna dasar krem kekuningan. Bentuk koloni bulat, tepian tipis menyerupai serat tipis menyebar ke seluruh permukaan petri. Tekstur permukaan halus dan elevasi timbul-rata. Hifa dari jamur *Saccharomyces* sp. memiliki sekat dan tidak memiliki warna. Hifa berbentuk tegak dan sedikit melengkung dan dari sekat tersebut akan terfragmentasi menjadi hifa baru. Bentuk hifa yang terfragmentasi mulai dari oval sampai batang dengan ukuran yang berbeda-beda Panjang dari hifa yang terfragmentasi sekitar 1,296 – 2,895 μ m dengan lebar 0,662 – 1,092 μ m.

Sampel 3 (Poh Santen)

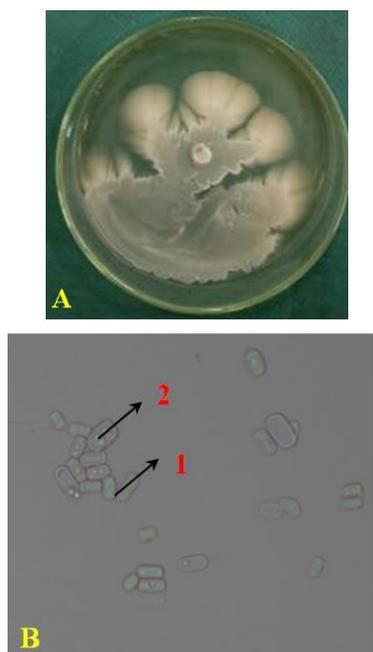
a. *Penicillium chrysogenum*



Gambar 7. Jamur *P. chrysogenum* pada sampel 3; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Mikroskopis (pembesaran 400x). (1) Konidiofor, (2) Fialid, (3) Konidia (10 μ m)

Gambar 7 menunjukkan warna dari koloni *Penicillium* sp. pada sampel 3 yaitu hijau kecokelatan, tepi putih dan memiliki sedikit kuning di antara warna hijau dan putih serta warna dasar kuning. Bentuk koloni bulat, hingga bulat telur dengan tepian berserabut menyebar hanya pada spot-spot tertentu. Tekstur permukaan kasar menyerupai beludru dengan elevasi timbul-rata. Dilihat dari ciri-ciri tersebut kemungkinan jamur yang ditemukan adalah jenis *P. chrysogenum*. Hifa bersekat hialin. Konidiafor bersekat, berbentuk tegak, ramping, dan bercabang. Memiliki fialid serta konidia berwarna sedikit hijau, berbentuk bulat dengan diameter sebesar 0,719 – 1,015 μ m. Sebaran konidia bergerombol dan membentuk untaian panjang.

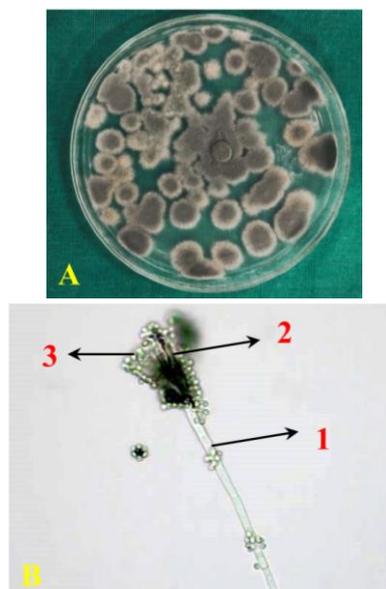
b. *Saccharomyces* sp.



Gambar 8. Jamur *Saccharomyces* sp. pada sampel 3; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x). (1) Mikrokonidia, (2) Inti sel (10 μ m).

Gambar 8 menunjukkan Jamur *Saccharomyces* sp. secara makroskopis warna koloni pada isolat sampel 3 putih dengan bagian tepi trasparan sedikit mengkilap dengan warna dasar putih. Bentuk koloni tidak beraturan (*irregular*). Tipe penyebarannya mulai dari tengah menyebar tidak merata ke setiap sisi. Bagian tepi koloni terlihat utuh (*entire*) membentuk kipas dengan warna semakin transparan, bagian tengah berwarna putih merata. Tekstur permukaan sedikit basah menyerupai lendir terutama di bagian tengah, elevasi rata (*flat*). Secara mikroskopis jamur yang ditemukan dari sampel 4 memiliki hifa yang memanjang dan tidak terlihat memiliki konidiofor maupun sporangiospora. Sel-sel yang ditemukan memiliki bentuk batang, dan oval meruncing. Beberapa sel hanya memiliki 1 sampai 2 inti sel. Panjang sel berkisar 1,470 – 2,092 μ m dengan lebar 0,877 – 1,310 μ m.

c. *Penicillium simplicissimum*

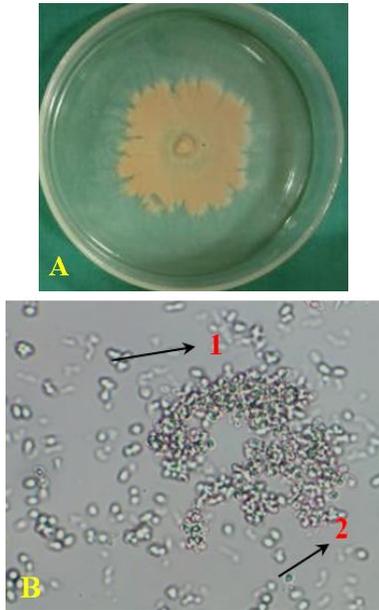


Gambar 9. Jamur *P. simplicissimum* pada sampel 3; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x). (1) Konidiofor, (2) Fialid, (3) Konidia

Gambar 9 menunjukkan Jamur *P. simplicissimum* dengan *Penicillium* sampel 3 berwarna hijau kecoklatan dengan tepi putih, warna dasar hijau kecoklatan. Bentuk koloni bulat hingga tak teratur serta tepian berserabut. Elevasi timbul-rata. Pesebarannya tidak beraturan dan menyebar ke spot-spot petri. Kemungkinan spesies dari *penicillium* ini adalah *P. simplicissimum*. Memiliki hifa bersekat hialin. Konidiofor bersekat, berbentuk tegak, ramping, dan bercabang. Fialid serta konidia berwarna hijau di bagian tepi, berbentuk bulat dengan diameter sebesar 0,766 – 1,015 μ m. Sebaran konidia bergerombol dan membentuk untaian panjang.

Sampel 4 (Tegal Cangkring)

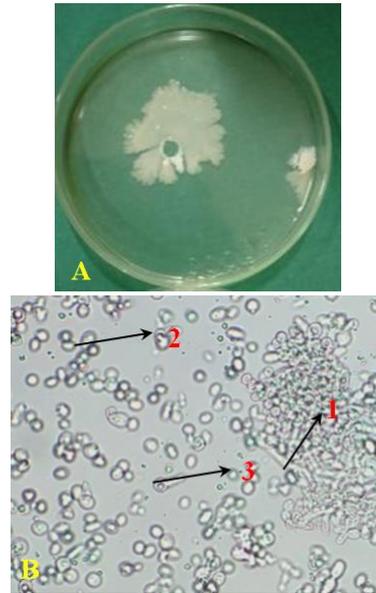
a. *Saccharomyces* sp.



Gambar 10. Jamur *Saccharomyces* sp. pada sampel 4; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x) (1) Mikrokonidia, (2) Inti sel ($10\ \mu\text{m}$).

Gambar 10 menunjukkan Jamur *Saccharomyces* sp. dengan koloni dari isolat sampel 4 cokelat dengan bagian tepi putih dan bagian dasar krem kemerahan. Bentuk koloni tidak beraturan, tepian berserat. Tipe pesebarannya dari bagian tengah menyebar merata ke segala sisi. Tekstur permukaan sedikit basah menyerupai lendir dengan elevasi rata. *Saccharomyces* pada sampel 4 adalah sel tunggal yang tidak memiliki spora dan hifa. Sel tunggal dari jamur *Saccharomyces* hialin. Beberapa sel tampak membelah dan mencubit “sel tunas” dari sel induk. Bentuk sel dari jamur *Saccharomyces* mulai dari bulat hingga oval dengan panjang $1,555 - 2,019\ \mu\text{m}$ dan lebar $0,95 - 1,309\ \mu\text{m}$.

b. *Saccharomyces* sp.

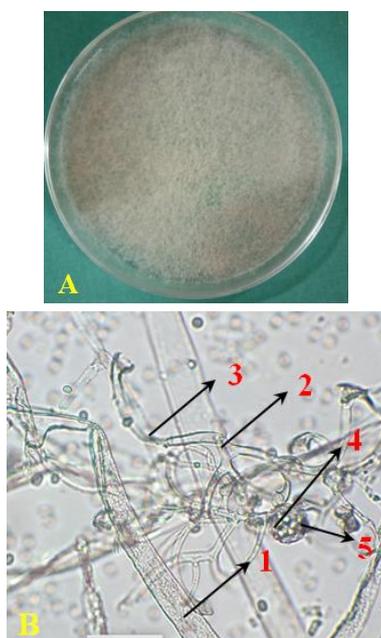


Gambar 11. Jamur *Saccharomyces* sp. pada sampel 4; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x). (1) Hifa, (2) Mikrokonidia, (3) Inti Sel ($10\ \mu\text{m}$)

Gambar 11 menunjukkan makroskopis jamur *Saccharomyces* pada sampel 4 berwarna koloni putih hingga transparan dengan warna dasar putih transparan. Bentuk koloni tak beraturan dengan tepian bergelombang sampai lobat. Tipe pesebarannya menyebar ke setiap sisi. Tekstur permukaan sedikit basah menyerupai lendir dengan elevasi rata. Secara mikroskopis jamur *Saccharomyces* pada sampel 4 selanjutnya memiliki sporagenus hifa yang memanjang diantara tumpukan sel. Sel-sel yang terpisah memiliki inti sel di dalamnya yang nantinya akan terjadi konjugasi dan menghasilkan sporagenus hifa kembali.

Sampel 5 (Penyaringan)

a. *Rhizopus* sp.



Gambar 12. Jamur *Rhizopus* sp. pada sampel 5; A Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (perbesaran 400x). (1) Hifa, (2) Stolon, (3) Sporangiosfor, (4) Sporangium, (5) Sporangiospora (10 μ m)

Gambar 12 menunjukkan Jamur *Rhizopus* sp. dengan koloni memiliki warna keabuan dan coklat. Tekstur permukaan halus berserat seperti kapas. Bentuk koloni bulat, tepian berserat. Elevasi cembung pada permukaan petri. Hifa tidak bersekat hialin. Sporangiosfor berbentuk tegak dan melengkung, ramping, dan bercabang. Sporangium membentuk bulatan sampai kubah di ujung spongangisfor. Pada pengamatan, ditemukan stolon-stolon pada sporangiosfore. Sporangiospora berwarna sedikit abu bening, berbentuk elips serta oval dengan diameter panjang sekitar 1,126 - 1,728 μ m. Diameter lebar sekitar 0,869 - 1,409 μ m.

Sampel 6 (Yehembang)

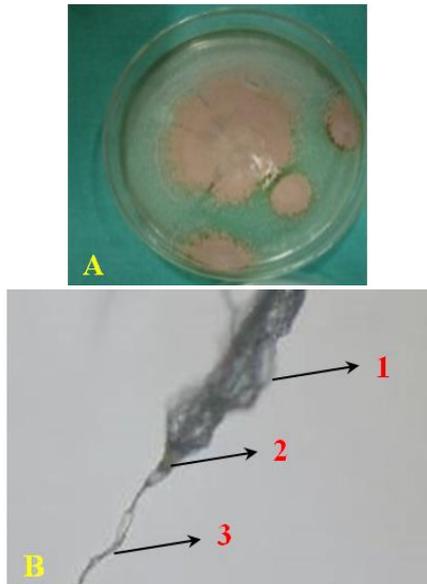
a. *Aspergillus flavus*



Gambar 13. Jamur *Aspergillus flavus*/*Aspergillus chevalieri* pada sampel 6; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (pembesaran 400x). (1) Konidiafor, (2) Konidia (10 μ m)

Gambar 13 menunjukkan Jamur *Aspergillus flavus* pada sampel 6 memiliki 2 warna berbeda yaitu coklat dan kuning dengan warna dasar coklat. Bentuk koloni bulat sampai tak beraturan dan menyebar secara acak ke seluruh petri. Memiliki tekstur permukaan halus seperti bubuk dengan elevasi rata, tepian menyerupai tepung. Kemungkinan spesies yang ditemukan adalah *Aspergillus flavus*. Hifa jamur memiliki sekat dan tidak berwarna. Konidiafor tidak bersekat dengan bentuk panjang dan tidak bercabang. Konidia berwarna kuning sampai coklat dengan bentuk bulat berdiameter 1,203 - 1,665 μ m.

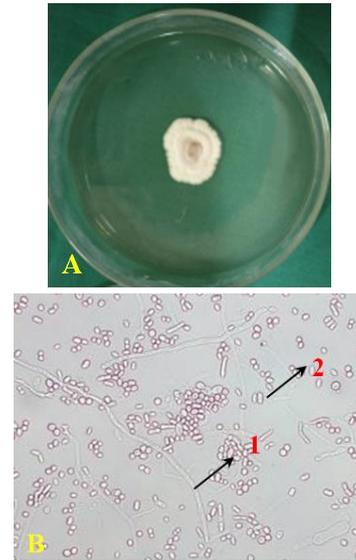
b. *Penicillium citrinum*



Gambar 14. Jamur *Penicillium citrinum* pada sampel 6; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (pembesaran 400x). (1) Hifa, (2) Fialid, (3) Konidia (10 μm)

Gambar 14 menunjukkan warna dari koloni *Penicillium* sp. memiliki warna permukaan dan warna dasar coklat tua. Bentuk koloni bulat sampai dengan bulat telur, tepian berserabut membentuk bubuk. Tipe persebarannya menyebar secara acak keseluruh petri, elevasi rata. Kemungkinan spesies yang ditemukan adalah *Penicillium citrinum*. Hifa bersekat hialin. Memiliki fialid dan konidiafor tidak bersekat, dengan bentuk tegak, ramping, dan tidak bercabang. Konidia tidak berwarna dan berbentuk bulat dengan diameter 0,414 – 0,796 μm . konidia menggerombol dan memanjang membentuk untaian.

c. *Chrysosporium* sp.



Gambar 15. Jamur *Chrysosporium* sp. pada sampel 6; A. Koloni jamur pada media PDA dan B. Karakteristik mikroskopis (pembesaran 400x). (1) Hifa, (2) Konidia (10 μm)

Gambar 15 menunjukkan koloni dari jamur *Chrysosporium* sp. putih pucat pada seluruh permukaan jamur, bagian tengah berwarna coklat muda dan bagian dasar coklat kemerahan. Bentuk koloni kosetris dengan tepian timbul. Tekstur permukaan halus dan mengekerut elevasi timbul-rata. hifa yang memanjang hialin dan memiliki sekat. Hifa tersebut akan terfragmentasi membentuk sel-sel baru yang disebut basidiospora memiliki bentuk bulat, oval hingga berbentuk batang. Setiap sel masing-masing memiliki 1 – 3 inti sel. Panjang basidiospora berkisar antara 1,360 – 2,458 μm dengan lebar 1,138 - 2,290 μm .

Tabel 2. Jenis dan polulasi mikroba kontaminan pada biji kakao terfermentasi (10^4 CFU/g)

Sampel	<i>Saccharomyces</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Mucor</i> sp.	<i>Chrysosporium</i> sp.	Jumlah
1	46,6 bc	0.00 a	0.00 a	0.00 a	10 b	0.00 a	56,6
2	173,3 c	5.0 a	90 b	1,667 a	0.00 a	0.00 a	270
3	5.0 a	35.0 a	0.00 a	15 b	0.00 a	0.00 a	55
4	5.0 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	5.0
5	0.00 a	0.00 a	6,6 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	6,6
6	1,667 a	156,6 b	0.00 a	1,667 a	0.00 a	5.0 b	165

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Jenis Jamur Yang Mendominasi Kontaminan

Dari hasil identifikasi jenis jamur kontaminan pada biji kakao kering fermentasi di Jembrana, Bali, diperoleh beberapa jenis jamur (Tabel 2). Tabel 2 memperlihatkan bahwa terdapat variasi dari jenis jamur yang mengkontaminasi di setiap sampel. Genus jamur *Saccharomyces* dan jamur *Aspergillus* mendominasi populasi jamur kontaminan dengan masing-masing total koloni 173,3 10^4 CFU/g dan 156,6 10^4 CFU/g.

Jamur *Saccharomyces* mendominasi sampel biji kakao fermentasi yang ada di Jembrana Bali. *Saccharomyces* memiliki kemampuan untuk mengubah gula menjadi alkohol dan gas karbondioksida. *Saccharomyces* berperan penting dalam fermentasi biji kakao, namun jumlah *Saccharomyces* yang terlalu tinggi dapat mengganggu proses fermentasi. Hal ini dikarenakan *Saccharomyces* dapat menghambat aktivitas mikroorganisme lainnya dan mempengaruhi mutu coklat bubuk yang dihasilkan. Populasi *Saccharomyces* berkurang diakhir proses fermentasi karena keterbatasan nutrisi dalam biji kakao. Proses penjemuran juga bertujuan untuk menekan jumlah mikroba sisa fermentasi.

Aspergillus sp. mendominasi kedua, *Aspergillus* sp. dapat tumbuh pada ruang kelembapan rendah ataupun tinggi, terutama

pada musim penghujan. Beberapa spesies *Aspergillus* dianggap sebagai jamur kontaminan, karena dapat menghasilkan mikotoksin dan berdampak buruk bagi manusia ataupun hewan, seperti *A. flavus* dan *A. niger* (Rahmadi dan Fleet, 2008).

Jamur *Penicillium* sp. mudah tumbuh pada lingkungan yang lembab selama proses fermentasi. Masa simpan juga mempengaruhi kadar air dalam biji (sifat higroskopis). Kandungan kadar air yang tinggi dan melebihi 14% akan sangat mudah terkontaminasi, jamur *Penicillium*. Beberapa spesies jamur *Penicillium* dapat berguna dalam pertanian dan pengobatan. Contohnya sebagai antagonis karena mengeluarkan beberapa senyawa alkaloid seperti agroklavine dan ergometrine (Haggag dan Mohamed, 2007). Spesies lainnya memiliki toksin yang menyebabkan kerugian seperti *P. expansum* yang paling sering menyebabkan busuk biru.

Mucor sp. dan *Rhizopus* sp. mudah tumbuh pada kelembapan tinggi dan kadar air tinggi pada biji kakao. *Rhizopus* sp. memiliki dominansi terendah yang hanya terdapat pada satu sampel. Jamur *Rhizopus* sp. memiliki kemiripan dengan *Mucor* sp. namun memiliki stolon dan rhizoid sebagai pembeda.

Chrysosporium sp. dapat tumbuh dengan baik ketika suhu kelembapan dan kadar air mendukung bagi pertumbuhan jamur. Mikroorganisme ini termasuk aerobik,

maka aktivitas biologisnya juga dipengaruhi oleh konsentrasi oksigen terlarut dalam media.

Standar Nasional Indonesia

Keenam sampel biji kakao kering fermentasi yang diambil dari petani masih belum memenuhi standar SNI yang ditetapkan. Berdasarkan batas maksimum kapang yang dikeluarkan oleh Badan Standar Nasional Indonesia (SNI 7388:2009) adalah 1×10^4 CFU koloni/g dalam kategori biji kakao. Standar total mikroba yang diperbolehkan pada biji kakao saat ini masih belum ada, namun untuk bubuk kakao sendiri standar yang diperbolehkan menurut SNI tahun 2009 sebesar 5×10^3 CFU/g.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian untuk jamur kontaminan pada biji kakao kering fermentasi di Jembrana, Bali dapat disimpulkan sebagai berikut Populasi jamur kontaminan pada biji kakao kering fermentasi paling tinggi mencapai populasi koloni 270×10^4 CFU/g dan paling rendah mencapai koloni 5×10^3 CFU/g biji kakao kering fermentasi. Jenis kontaminan yang mendominasi pada biji kakao kering fermentasi secara berurutan yaitu, *Saccharomyces* sp. $173,3 \times 10^4$ CFU/g, *Aspergillus* sp. $156,6 \times 10^4$ CFU/g, *Rhizopus* sp. 90×10^4 CFU/g, *Penicilium* sp. 15×10^4 CFU/g, *Mucor* sp. 10×10^4 CFU/g dan *Chrysosporium* sp. 5×10^4 CFU/g. Keenam sampel tersebut masih belum memenuhi standar SNI. Berdasarkan hasil penelitian jamur kontaminan pada biji kakao kering fermentasi dari Jembrana, Bali disarankan pengadaan alat pengering kakao modern dengan pengatur suhu sesuai kebutuhan, serta alat pengukur kadar air untuk setiap kelompok tani. Biji kakao yang terkontaminasi harus ditempatkan di ruang terpisah dengan biji kakao yang sudah disortasi. Perlu dilakukan penelitian lebih

lanjut untuk penganggulangan jamur kontaminasi pada biji kakao kering fermentasi khususnya di Jembrana, Bali.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standardisasi Nasional. (2010). *Standar Nasional Indonesia (SNI) Biji Kakao Nomor 2323:2008/Amd1:2010*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standardisasi Nasional. (2009). *Standar Nasional Indonesia (SNI) Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan Nomor 73388:2009*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- BPS Provinsi Bali. (2023). Provinsi Bali dalam Angka 2023. BPS Provinsi Bali
- Copetti, M.V., B.T Imanaka., J.I. Pitt., & M.H. Taniwaki. (2014). Fungi and Mycotoxins in Cocoa: from Farm to Chocolate. *Int. J. Food Microb.* 178: 13-20.
- Haggag, W.M., A.L Mohamed. (2007). Biotechnological Aspect of Microorganisms Used in Plant Biological Control. *World Journal of Agricultural Sciences.* 3(6): 771-776.
- Kementerian Perdagangan. (2014). Profil ekonomi. Retrieved from <http://www.kemendag.go.id/id/economic-profile/indonesia-exportimport/growth-of-non-oil-and-gas-exportcommodity>. Diakses pada 13 Oktober 2023
- Pradikaningrum, H. (2015). Uji viabilitas mikroenkapsulasi *Lactobacillus casei* menggunakan matrik kitosan. *Skripsi*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Rahmadi, A., & G.H, Fleet. (2008). The Occurrence of Mycotoxigenic Moulds in Cocoa Beans from Indonesia and Queensland, Australia. *Proceeding on International Seminar on Food Science*. Semarang: University of Soegiyapranata. 1-18
- Sumarsih, S. (2003). *Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta: Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian UPN Veteran.

Wahyudi T, T.R Panggabean, Pujiyanto.
(2008). Panduan Lengkap Kakao
:Manajemen Agribisnis dari Hulu
Hingga Hilir. Penebar Swadaya,
Jakarta.