**POPULASI JAMUR MIKOTOKSIGENIK DAN KANDUNGAN
AFLATOKSIN PADA BEBERAPA CONTOH BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao* L) ASAL SULAWESI TENGAH**

**Population of Mycotoxigenic Fungi and Aflatoxin Content in Some Cacao
Seed Samples from Central Sulawesi**

A s r u l¹⁾

¹⁾Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako , Jl. Soekarno – Hatta Km 9 Palu 94118, Sulawesi Tengah Telp/Fax : 0451 – 429738

ABSTRACT

The WHO and FAO regulation on the maximum level of 30 ppb aflatoxin in foods and feeds has prompted consumer-countries from Europe and USA to put pressure on producer-countries of cacao seeds to fulfill this requirement. It is reported that aflatoxin contamination produced by fungi *Aspergillus flavus* in cacao seeds can occur in crops, in the field, at harvest, during postharvest operations and in storage. This study aims at identifying mycotoxigenic fungi and their population, the content of aflatoxin in cacao seed at farmer, collecting-traders and exporter levels, and correlation between fungi population with aflatoxin content on cacao seed from Central Sulawesi. At a preliminary study, survey was conducted to determine samples of farmers, collecting-traders and exporters, and samples of cacao seeds (purposive sampling) in Donggala, Parigi Moutong, Poso, Morowali, Buol and Toli-toli districts as well as in Palu city. Six samples of cacao seed were taken from every district and city (1 kg per seed sample). Fungi from cacao seeds were isolated using a planting method with Potato Dextrosa Agar (PDA) as a media. The examination for other *A. flavus* and mycotoxigenic population was determined microbiologically, whereas aflatoxin was determined using HPTLC (*High Performance Thin Layer Chromatography*). The results of the study showed that the number of fungi species (9 species), the density of fungi population (1.4×10^9) and the aflatoxin content (104.798 ppb) in dried cacao seed trading at the farmer level were higher than that of at the collecting-trader level (6 species; 6.5×10^7 population density; 61.305 ppb aflatoxin content) and at the exporter level (5 species; 6.0×10^5 population density; 47.737 ppb aflatoxin content). The fungi found at the ecology of cacao seed were *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, *Mucor* sp, *Rhizopus* sp, *Geotrichum* sp, *Verticillium* sp, *Trichoderma viride* dan *Trichoderma* sp.

Key words : Population, mycotoxigenic, aflatoxin

PENDAHULUAN

Pemasaran biji kakao Indonesia telah mencapai perdagangan pasar Internasional. Sebagian besar biji kakao Indonesia di ekspor ke luar negeri, walaupun sudah ada beberapa industri pengolahan biji kakao menjadi produk setengah jadi. Perkembangan ekspor biji kakao dari Indonesia relatif menunjukkan peningkatan dari tahun ke tahun, sehingga ini

merupakan peluang bagi Indonesia untuk dapat memperoleh pendapatan devisa dari komoditi ini. Pada tahun 2001, nilai ekspor kakao Indonesia sebesar 391,086 US dollar dan pada tahun 2006 telah mencapai 667,993 US dollar. Hal yang sangat menentukan tingkat harga di perdagangan pasar Internasional adalah mutu biji kakao. Oleh karena itu, mutu biji kakao yang akan di ekspor perlu mendapat perhatian dari produsen biji kakao terutama di Indonesia (Deperinda, 2007).

Dalam perdagangan kakao, salah satu penentu mutu biji kakao adalah adanya kandungan jamur, dimana 3% adalah batas maksimal yang diperkenankan untuk grade I dan maksimal 4% untuk grade II. Namun standar perdagangan kakao ini tidak menyentuh aspek kontaminasi jamur sebagai penghasil toksin ataupun metabolitnya (Rahmadi dan Fleet, 2008). Hal ini menyebabkan kurangnya perhatian pemerintah dan masyarakat khususnya petani kakao akan bahaya yang ditimbulkan berupa metabolit sekunder (toksin) yang diproduksi oleh jamur.

Jamur dapat tumbuh dan berkembang pada hasil-hasil pertanian sebelum panen, hasil panen yang sedang disimpan maupun produk yang sedang atau telah diolah. Belum dikuasanya teknologi penanganan pascapanen biji kakao kering atau pengolahan pascapanen yang kurang tepat dan tidak layak seperti pemanenan, sortasi, pencucian, penjemuran dan penyimpanan, menyebabkan mudahnya terjadi kontaminasi mikroorganisme yang tidak diharapkan seperti jamur penghasil toksin. Jamur tersebut akan mencemari biji kakao dan dapat menimbulkan perubahan-perubahan kimiawi di dalamnya, sehingga komoditi ini tidak dapat dikonsumsi atau bahkan beracun. Rahmadi dan Fleet (2008) melaporkan bahwa jamur mikotoksigenik dapat tumbuh di produk kakao sehingga kemungkinan adanya mikotoksin diproduksi kakao, coklat, kacang-kacangan dan sereal. Kontaminasi mikotoksin pada biji kakao tidak hanya berbahaya bagi kesehatan manusia namun juga dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup besar dan berpengaruh terhadap perdagangan Internasional (Maryam, 2006).

Aflatoksin merupakan salah satu nama sekelompok senyawa yang termasuk mikotoksin dan paling toksik dibanding mikotoksin lainnya. Aflatoksin bersifat karsinogen dan banyak ditemukan pada produk pertanian. Aflatoksin dapat menyebabkan kanker dan ginjal pada manusia bila dikonsumsi secara berlebihan. Mengingat bahaya yang ditimbulkannya, maka WHO,

FAO dan UNICEF telah menetapkan batas kandungan aflatoksin pada produk pertanian yang dikonsumsi, tidak lebih dari 30 ppb. Bahkan *European Commission* menetapkan batas maksimal total aflatoksin lebih rendah yakni 4 ppb untuk produk serelia (Miskiyah dan Widaningrum (2008).

Aflatoksin diproduksi terutama oleh jamur *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. pseudotamarii* dan *A. ochraceoroseus*. Kontaminasi aflatoksin pada komoditi pertanian lebih sering terjadi di daerah beriklim tropik dan sub tropik karena suhu dan kelembabannya sesuai untuk pertumbuhan jamur (Handajani dan Setyaningsih, 2006).

A. flavus sebagai penghasil utama aflatoksin umumnya hanya memproduksi aflatoksin B₁ dan B₂ (AFB₁ dan AFB₂). Sedangkan *A. parasiticus* memproduksi AFB₁, AFB₂, AFG₁ dan AFG₂. *A. flavus* dan *A. parasiticus* tumbuh pada kisaran suhu yang panjang, berkisar dari 10–12⁰C sampai 42–43⁰C dengan suhu optimum 32–33⁰C dan pH optimum 6 (Maryam, 2002). Handajani dan Setyaningsih (2006) melaporkan, aflatoksin B₁ merupakan salah satu senyawa yang dapat menjadi penyebab terjadinya kanker pada manusia. Aflatoksin berpotensi karsinogenik, mutagenik, teratogenik dan bersifat immunosupresif. Diantara keempat jenis aflatoksin tersebut, AFB₁ memiliki efek toksik yang paling tinggi.

Sudjadi *et al.* (1999) melaporkan bahwa 80 diantara 81 orang pasien (66 orang pria dan 15 orang wanita) menderita kanker hati. AFB₁, AFG₁, dan AFM₁ terdeteksi pada contoh liver dari 58% pasien tersebut dengan konsentrasi diatas 400 µg/kg.

Kerusakan yang disebabkan oleh mikroba ini merupakan bentuk kerusakan yang paling merugikan dan berbahaya bagi kesehatan manusia karena aflatoksin yang diproduksi serta proses kerusakannya berlangsung cepat. Menurut Buckel *et al.*, (1987), keamanan produk pertanian dari kerusakan akibat serangan mikroba ditentukan oleh jumlah dan spesies patogenik yang terdapat pada produk tersebut.

Propinsi Sulawesi Tengah merupakan salah satu daerah penghasil kakao terbesar kedua di Indonesia setelah Sulawesi Selatan, dengan produksi kakao sebesar 137.000 ton / ha atau 21,04% dari total produksi kakao nasional yakni 456.000 ton/ha. Sebagian besar kakao dari daerah ini di ekspor ke beberapa negara di dunia (Deperinda, 2007).

Oleh karena propinsi Sulawesi Tengah merupakan salah satu sentra produksi kakao di Indonesia, maka perlu dilakukan suatu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis jamur mikotoksigenik yang tumbuh dan menginfeksi biji kakao dan populasinya.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, UNTAD Palu. Pengambilan sampel dilakukan di satu Kota dan enam Kabupaten. Percobaan dilaksanakan selama 10 bulan yaitu bulan Januari - November 2009.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain biji coklat, media PDA, alkohol 70%, NaOCl 1%, Ultra Violet (UV), pewarnaan laktofenol kotton blue, larutan asam laktat dan tripan blue, asam asetat, metanol, buffer salin fosfat, metil blue dan aquades. Peralatan yang dipakai adalah cawan petri (diameter 15 cm) dan tabung reaksi, erlemeyer, batang pengaduk, gelas piala, gelas ukur, aluminium foil, lampu spritus (bunsen), jarum isolasi, vorteks, mikroskop, mikropipet, timbangan analitik, cover glass, ose dan pinset, *autoklaf*, suntikan, kertas saring, tissue rol, gunting, label dan lain-lain.

Metode Pelaksanaan

Pengumpulan Sampel

Survei dilakukan pada daerah/lokasi sentra produksi pertanaman kakao di Sulawesi Tengah yaitu di Kabupaten Donggala, Parigi

Moutong, Poso, Morowali, Buol dan Toli-toli, dengan kondisi geografis yang berbeda di wilayah Sulawesi Tengah. Setiap lokasi terdapat tiga petani dan tiga pedagang pengumpul sebagai tempat pengambilan contoh biji. Pengambilan contoh biji dilaksanakan secara purposive yaitu mengamati dan mengumpulkan contoh biji kakao yang diduga terserang jamur mikotoksigenik. Untuk pengambilan contoh biji pada eksportir, diambil langsung dari tiga gudang penyimpanan biji kakao siap ekspor di Kota Palu sebagai basis ekspor produk-produk komoditas pertanian Sulawesi Tengah ke luar daerah/negeri. Biji kakao yang digunakan sebagai contoh, diambil masing-masing sebanyak 6 contoh biji pada setiap lokasi (1 kg per contoh biji). Dengan demikian, terdapat 18 contoh biji (sampel) dari petani, 18 sampel dari pedagang pengumpul dan 3 sampel dari eksportir. Biji kakao yang telah dikumpulkan, diambil dan dimasukkan ke dalam kantong plastik steril kemudian dibawa ke Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, UNTAD Palu.

Di laboratorium, dari setiap 1 kg contoh biji kakao, diambil sebanyak 100 biji secara acak kemudian dijadikan sebagai sampel dalam percobaan ini.

Isolasi Jamur dari Contoh Biji Kakao

Isolasi jamur menggunakan metode agar (PDA). Mula-mula biji kakao sebanyak 100 contoh biji, dicelupkan atau direndam ke dalam larutan natrium klorida (NaOCl) 1% selama 30 detik dalam wadah, selanjutnya dibilas dengan air steril dan di keringanginkan. Kemudian contoh biji ditumbuhkan pada medium PDA dalam cawan petri (diameter 15 cm) secara aseptik dengan jarak antara biji tidak bersentuhan. Jumlah cawan petri yang digunakan sebanyak 10 cawan dengan masing-masing cawan berisi 10 contoh biji.

Cawan petri yang berisi biji kakao, diinkubasi antara 5–7 hari. Pertumbuhan dan warna koloni jamur yang tumbuh pada medium agar, diamati. Setelah itu jamur diisolasi pada medium PDA. Dari

hasil isolasi tersebut, jamur yang tumbuh diamati morfologinya secara mikroskopis dan diidentifikasi spesiesnya dengan kunci identifikasi yang telah dideskripsikan oleh Raper dan Fennel (1973).

Koloni jamur mikotoksigenik yang sudah berhasil diidentifikasi, dibuat biakan murninya pada beberapa cawan petri dan tabung reaksi yang berisi medium PDA.

Penghitungan Populasi Mikotoksigenik

Biakan murni jamur mikotoksigenik di ditumbuhkan pada medium agar (PDA) miring dalam tabung reaksi selama 48 jam pada suhu kamar. Kemudian dimasukkan 10 ml air steril ke dalam tabung reaksi sehingga terbentuk suspensi jamur. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} hingga di capai 10^{-8} dengan menggunakan aquadest steril. Hasil pengenceran tersebut diinokulasikan pada PDA dalam cawan petri. Inokulasi jamur dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 ml suspensi dari masing-masing pengenceran kemudian disebarkan dan di ratakan pada permukaan medium PDA yang sudah membeku dalam cawan petri dengan menggunakan L-glass. Setiap pengenceran dibuat 3 ulangan cawan petri. Kemudian diinkubasikan pada suhu kamar dan diamati jumlah koloninya. Pengamatan terhadap variabel populasi jamur dilakukan pada 48 jam setelah inokulasi

Jumlah populasi jamur dihitung dengan rumus :

$$Pb = Jk \times \frac{1}{Fp} \quad Fp = p \times Vs$$

Pb = populasi jamur (cfu/ml)

Jk = jumlah koloni

Fp = faktor pengenceran

p = pengenceran

Vs = volume suspensi yang ditumbuhkan (ml) dalam cawan petri

Jumlah koloni yang dihitung berasal dari cawan petri yang dipilih dan dihitung mengandung jumlah koloni antara 30 – 300 koloni.

Identifikasi Isolat jamur

Identifikasi isolat jamur dilakukan baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan cara melihat langsung koloni yang tumbuh pada media PDA setelah 48 jam masa inkubasi pada suhu 28 – 30⁰C. Koloni yang tumbuh akan memiliki spora dengan bentuk dan warna yang berbeda-beda tergantung spesies jamur, sedangkan identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan cara mengamati struktur jamur di bawah mikroskop. Pengamatan makroskopis meliputi warna koloni, tepi koloni, permukaan koloni, penampakan/profil koloni serta sebalik koloni.

Analisis Aflatoksin

Analisis kuantitatif dilakukan dengan HPTLC pada kolom Resolve TM C18, partikel sferis dengan ukuran 5 UM dengan fasa gerak dipilih air-asetonitril 15:4. Deteksi dilakukan dengan detektor fluorometer pada panjang gelombang eksitasi 360 nm dan emisi 425 nm. Nilai Rf (*Rate of flow*) dari fluoresensi bercak sampel dan standar dibandingkan. Aflatoksin dikatakan positif apabila Rf sampel sama dengan standar (deteksi aflatoksin secara kualitatif).

Kadar aflatoksin pada sampel (deteksi aflatoksin secara semi kuantitatif) diperoleh dengan membandingkan intensitas fluoresensinya dengan deret standar aflatoksin. Kadar aflatoksin ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar aflatoksin (ppb)} = \frac{S \times Y \times V \times Fp}{W \times Z}$$

Keterangan:

S = volume aflatoksin standar (μ l) yang memberikan perpendaran setara dengan Z μ l sampel

Y = konsentrasi aflatoksin standar dalam μ g/ml

Z = volume ekstrak sampel yang dibutuhkan untuk memberikan perpendaran setara dengan S μ l standar aflatoksin

V = volume pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel ekstrak akhir (μl)

W = volume sampel (ml)

Fp = faktor pengenceran

Analisis aflatoksin menggunakan HPTLC sesuai AOAC yang terdiri terdiri atas tahap ekstraksi (umumnya menggunakan metanol), clean up (menggunakan kolom) dan identifikasi. Pada tahap identifikasi menggunakan HPTLC, aflatoksin akan diderifatisasi terlebih dahulu menggunakan Tri Fluoro Acetic acid (TFA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Macam-macam Jamur

Pada Tabel 1 tampak bahwa di tingkat petani, jumlah jamur yang menginfeksi biji kakao sebanyak 9 spesies, pedagang pengumpul 6 spesies dan eksportir 5 spesies. Ini berarti keragaman jumlah jamur yang menginfeksi biji kakao di tingkat petani lebih banyak dibanding pada tingkat pedagang pengumpul dan eksportir. Kontaminasi jamur yang lebih tinggi di tingkat petani kemungkinan besar disebabkan teknik pengolahan biji kakao kering yang belum tepat, seperti pemanenan, sortasi, pencucian, penjemuran dan penyimpanan.

Tabel 1. Keberadaan Jamur-jamur pada Biji Kakao di Berbagai Tingkat Tataniaga

Jamur	Petani	Pedagang Pengumpul	Eksportir
<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	-	-
<i>Penicillium</i> sp	+	+	+
<i>Fusarium</i> sp	+	+	-
<i>Trichoderma</i> sp	+	+	-
<i>Trichoderma viride</i>	-	-	+
<i>Rhizopus</i> sp	+	-	-
<i>Mucor</i> sp	+	+	-
<i>Verticillium</i> sp	+	-	-
<i>Geotrichum</i> sp	-	-	+

Keterangan : - = tdk ada jamur
+ = ada jamur

Berdasarkan hasil pengamatan pada proses panen buah kakao di beberapa Kabupaten di Propinsi Sulawesi Tengah, pemanenan buah kakao seringkali dilakukan petani sebelum waktunya, yakni panen dilakukan saat buah kakao belum masak optimal dimana buah kakao masih berwarna hijau kekuningan atau merah bata sehingga biji yang dihasilkan masih muda. Buah kakao mencapai masak optimal apabila buah telah berwarna kuning tua (kuning jingga) atau kekuning-kuningan (Haryadi dan Supriyanto, 1991).

Menurut Maryam (2006), biji yang masih muda banyak memiliki kandungan air. Hal ini sangat mendukung bagi pertumbuhan dan perkembangan jamur pascapanen terutama bila pengeringan yang dilakukan tidak sempurna. Biji kakao dengan kandungan air yang tinggi akan menimbulkan jamur pada permukaan kulitnya saat penyimpanan dilakukan, sehingga dapat merusak citarasa dan penampakannya. Hal inilah yang menyebabkan biji kakao harus dikurangi kadar airnya sampai batas aman untuk penyimpanan. Untuk menjaga agar komoditi kakao tidak cepat rusak dan dapat disimpan lama, kandungan air harus diturunkan menjadi 7 - 9% melalui proses penjemuran di bawah terik matahari. Keuntungan yang diperoleh dari proses tersebut adalah mutu citarasanya lebih terjamin, asalkan tidak dipengaruhi oleh faktor-faktor perusak lainnya (Amin, 2006). Pada penelitian ini, tidak dilakukan pengukuran kadar air setelah panen karena keterbatasan peralatan dan walaupun ada, sangat mahal sewa atau harganya.

Kontaminasi jamur ditingkat petani kakao dapat pula di temukan dalam proses penanganan pascapanen lainnya. Biji kakao yang berada dalam buah dan belum dibuka, relatif steril dari cemaran mikrobiologi. Namun, dalam proses pengeluaran biji kakao, kontaminasi terjadi dengan bantuan tangan pekerja, melalui pisau yang digunakan, tempat yang tidak dicuci maupun polong-polong kering yang tertinggal di wadah fermentasi (Rahmadi dan Fleet, 2008).

Pada pengamatan lainnya terhadap kegiatan penjemuran dan penyimpanan biji kakao, menunjukkan bahwa proses penjemuran dan penyimpanan di tingkat petani berlangsung selama 1–3 hari. Alasan kebutuhan hidup yang mendesak menyebabkan petani menjual cepat hasil pertaniannya meskipun biji kakaonya belum kering sempurna, dengan lama simpan 1 sehari. Untuk di tingkat pedagang pengumpul, proses penjemuran dan penyimpanan biji kakao dilaksanakan selama 1–7 hari dan di tingkat eksportir selama 1–2 hari untuk penjemuran dan 2–60 hari untuk penyimpanan, menunggu keberangkatan kapal yang membawa komoditi biji kakao ke luar daerah. Periode penjemuran dan penyimpanan biji kakao di masing-masing tingkatan tataniaga yang berbeda-beda, memungkinkan munculnya spesies jamur yang diperoleh tersebut berbeda pula. Perbedaan lama penjemuran produk selama dijemur dan lamanya produk disimpan mengakibatkan peluang kontaminasi jamur lebih besar.

Pencucian biji biasanya dilakukan setelah proses fermentasi, tetapi pada umumnya petani tidak melakukan proses ini (berdasarkan wawancara dengan petani). Pencucian selain membersihkan sisa-sisa pulp yang masih menempel juga untuk menghentikan proses fermentasi serta mempercepat proses pengeringan dan memperbaiki kenampakan biji. Menurut Maryam (2006), kontaminasi jamur mikotoksigenik pada produk pertanian dapat dikurangi dengan pencucian yang diikuti dengan penjemuran.

Biji kakao yang sudah kering dari proses penjemuran harus disortasi untuk memisahkan antara biji baik/sehat dari biji yang rusak akibat kerusakan mekanik, infeksi jamur / busuk dan biji cacat berupa biji pecah, kotoran-kotoran, atau benda asing lainnya seperti batu, kulit dan daun-daunan, agar diperoleh biji yang seragam dan mengurangi penyebaran langsung jamur mikotoksigenik. Sortasi dilakukan setelah 1–2 hari dikeringkan agar kadar air seimbang, sehingga biji tidak terlalu rapuh dan tidak mudah rusak. Sortasi dapat dilakukan dengan menggunakan ayakan

yang dapat memisahkan biji kakao dengan kotoran-kotoran. Menurut Maryam (2006), sortasi dengan cara tersebut dapat menurunkan konsentrasi aflatoksin pada produk pertanian. Sementara kegiatan sortasi ini sangat jarang dilakukan oleh petani kakao ketika biji akan disimpan untuk dijual (berdasarkan wawancara dengan petani). Hal ini memudahkan terjadinya kontaminasi jamur pada biji kakao sehat di tempat penyimpanan.

Demikian pula pada kegiatan penjemuran dan penyimpanan. Biji kakao yang akan disimpan harus berada dalam keadaan kering dengan kadar air yang sesuai untuk penyimpanan. Untuk negara-negara beriklim tropik seperti Indonesia dengan suhu dan kelembaban yang tinggi, kadar air ideal untuk biji kakao berkisar antara 7–9% (Saleh, 1995). Oleh karena lama penjemuran di tingkat petani relatif pendek, yakni 1 – 2 hari maka biji kakao yang disimpan untuk dijual tidak berada dalam kondisi kering sempurna. Hal ini menstimulir pertumbuhan jamur pada biji kakao karena diduga kadar air biji masih berada pada kisaran aktif pertumbuhan jamur pascapanen di tempat penyimpanan. Menurut Ishak dan Amrullah (1985), jamur sering dijumpai tumbuh dan berkembang pada produk setengah kering dimana bakteri dan khamir tidak dapat tumbuh.

Lama penjemuran yang dianjurkan adalah maksimum 7 hari atau dapat lebih dari 10 hari tergantung dari keadaan cuaca dan lingkungan. Untuk memperoleh biji kakao dengan kadar air di bawah 7%, lama penjemuran yang diperlukan adalah 8–9 hari (Yusianto *et al.*, 2008).

Lama penjemuran yang pendek belum cukup bagi sinar matahari untuk dapat mematikan semua jamur yang menginfeksi biji kakao. Menurut Rahmadi dan Fleet (2008), kontaminasi jamur pada produk biji kakao kering disebabkan oleh pengeringan yang tidak sempurna (lama penjemuran yang pendek) dan kandungan kadar air biji yang masih cukup tinggi (>8%). Selanjutnya Haryadi dan Supriyanto (1991) menambahkan,

kondisi yang sesuai untuk serangan jamur adalah pada biji kakao yang rusak terutama pada biji yang pengeringannya tidak sempurna. Untuk mengontrol pertumbuhan jamur dapat dilakukan dengan merusak spora melalui proses pemanasan. Sinar matahari mempunyai daya fungisidal karena memiliki spektrum ultraviolet, sehingga dapat membunuh jamur secara langsung (Semangun, 1991) terutama bila penjemuran biji kakao lebih lama waktunya.

Pada tingkat eksportir, jamur yang ditemukan berada dalam jumlah yang relatif kurang. Hal ini disebabkan biji kakao yang diperoleh dari pedagang pengumpul, telah melalui proses penjemuran yang panjang sehingga memungkinkan jamur yang tumbuh lebih sedikit bahkan mati akibat terpaan sinar matahari.

Jamur-jamur yang ditemukan pada biji kakao di tingkat petani, pedagang pengumpul dan eksportir sebagian besar merupakan jamur pascapanen. Jamur *Aspergillus flavus*, *A. niger* dan *Penicillium* sp. merupakan jamur pascapanen yang ditemukan pada setiap tingkatan tataniaga biji kakao. Jamur tersebut bersifat kosmopolit (terdapat dimana-mana) dan berpotensi menghasilkan mikotoksin. Selain itu terdapat jamur pascapanen lainnya seperti *Rhizopus* sp dan *Mucor* sp. meskipun tidak berada pada semua tingkatan rantai tataniaga. Jamur pascapanen

ini merupakan jamur saprofit yang umum di tempat penyimpanan, bukan terbawa dari lapangan. Jamur prapanen seperti *Verticillium* sp, *Geotrichum* sp. dan *Fusarium* sp juga berhasil diisolasi dari biji kakao walaupun telah melalui penjemuran. Jamur ini kemungkinan terikut dari lapang saat pengolahan biji kakao atau mengkontaminasi biji kakao saat penjemuran dan penyimpanan melalui spora yang terbawa oleh udara atau media perantara lainnya.

Populasi Jamur

Hasil perhitungan kepadatan populasi berbagai spesies jamur pada setiap rantai tataniaga, disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel tersebut, tataniaga biji kakao kering pada tingkat petani, jamur *A. flavus*, *Fusarium* sp dan *Mucor* sp memiliki kepadatan populasi paling tinggi yakni 10^8 cfu/ml, di ikuti *Verticillium* sp dan *Penicillium* sp masing-masing 10^7 cfu/ml. Sementara di tingkat pedagang pengumpul, *Fusarium* sp merupakan jamur tertinggi dengan kepadatan populasinya yakni 10^7 cfu/ml, kemudian *Mucor* sp 10^6 cfu/ml, diikuti oleh *A. flavus* dan *Penicillium* sp. masing-masing 10^5 cfu/ml Di tingkat eksportir, kepadatan populasi tertinggi terdapat pada jamur *Trichoderma viride* dan *A. niger* masing-masing populasi 10^5 cfu/ml, kemudian diikuti *Geotrichum* sp dan *Penicillium* sp masing-masing sebesar 10^4 cfu/ml.

Tabel 2. Kepadatan Populasi Jamur pada Tingkat Petani, Pedagang Pengumpul dan Eksportir (cfu/ml)

Jamur	Petani	Pedagang Pengumpul	Eksportir
<i>Aspergillus flavus</i>	$7,2 \times 10^8$	$4,5 \times 10^5$	$4,1 \times 10^3$
<i>Aspergillus niger</i>	$4,7 \times 10^6$	$9,0 \times 10^6$	$5,1 \times 10^5$
<i>Aspergillus fumigatus</i>	$3,3 \times 10^4$	-	-
<i>Penicillium</i> sp	$6,4 \times 10^7$	$7,2 \times 10^5$	$9,2 \times 10^4$
<i>Fusarium</i> sp	$6,1 \times 10^8$	$5,5 \times 10^7$	-
<i>Trichoderma</i> sp	$4,4 \times 10^5$	$6,1 \times 10^4$	-
<i>Trichoderma viride</i>	-	-	$7,7 \times 10^5$
<i>Rhizopus</i> sp	$5,3 \times 10^6$	-	-
<i>Mucor</i> sp	$3,9 \times 10^8$	$4,8 \times 10^6$	-
<i>Verticillium</i> sp	$5,6 \times 10^7$	-	-
<i>Geotrichum</i> sp	-	-	$6,0 \times 10^4$

Tabel 3 menyajikan hubungan kandungan aflatoksin B₁ dengan kepadatan populasi jamur mikotoksigenik pada berbagai tingkatan tataniaga biji kakao. Semakin tinggi tingkat kepadatan populasi jamur mikotoksigenik, semakin tinggi pula kandungan aflatoksin B₁ yang terdapat pada biji kakao kering. Total kepadatan populasi jamur tertinggi terdapat pada tingkat petani, disusul pedagang pengumpul dan eksportir.

Tabel 3. Rata-rata Kandungan Aflatoksin B₁ dengan Total Kepadatan Populasi Jamur Mikotoksigenik Diberbagai Tingkatan Tataniaga Biji Kakao

Tataniaga	Total Kepadatan Populasi Jamur	Kandungan Aflatoksin (ppb)
Petani	1,4 x 10 ⁹	104,798
Pedagang pengumpul	6,5 x 10 ⁷	61,305
Eksportir	6,0 x 10 ⁵	47,737

Tingginya kepadatan populasi jamur ditingkat petani diduga disebabkan oleh kondisi yang mendukung terjadinya pencemaran spora jamur, terutama saat penanganan pascapanen biji kakao yang dilakukan secara kurang tepat. Berdasarkan observasi di lapangan, petani di Sulawesi Tengah seringkali melakukan penjemuran biji kakao diatas lantai semen tanpa penutup plastik transparan pada ruang terbuka. Plastik transparan digunakan untuk menutupi biji kakao saat penjemuran berlangsung di atas lantai atau terpal. Penutup ini berguna untuk melindungi biji kakao dari kontaminasi kotoran-kotoran atau mikroba yang tersebar di udara dan agar temperatur yang diterima biji kakao relatif tinggi dan lebih merata sehingga lebih cepat kering.

Menurut Amin (2006), penjemuran dibawah terik matahari pada tempat terbuka, dapat dengan mudah terkena kotoran-kotoran seperti dari binatang, serangga, mikroba di udara, tanah atau kerikil-kerikil. Jamur yang ditemukan pada biji kakao kemungkinan besar merupakan kontaminasi dari udara

selama proses penjemuran. Keadaan spora jamur yang kering dan mudah lepas memudahkan spora tersebar oleh udara. Sifat jamur yang mudah tumbuh dan menyebar dengan spora yang terbawa oleh udara dan media perantara lainnya, akan mudah mencemari biji kakao terutama saat penjemuran dan penyimpanan. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan populasi jamur.

Kandungan Aflatoksin

Kandungan aflatoksin pada berbagai rantai tataniaga, diuji dengan metode analisa HPTLC disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel di atas, diperoleh informasi bahwa kandungan aflatoksin ditingkat petani lebih tinggi daripada di tingkat pedagang pengumpul dan eksportir. Adanya pertumbuhan jamur yang ditemukan pada biji kakao ini merupakan indikator adanya kontaminasi aflatoksin. Aflatoksin ini diperkirakan berasal dari jamur yang mengkontaminasi biji kakao ketika berada di lapang, saat proses fermentasi berlangsung, ataupun kontaminasi yang berasal dari kontak antara biji kakao dengan udara/debu. Pada tingkat pedagang pengumpul dan eksportir, meskipun telah dilakukan penjemuran yang lama tetapi kandungan aflatoksin tetap ada. Menurut Maryam (2006), mikotoksin tidak dapat rusak/hilang melalui proses pengolahan karena sifatnya relatif stabil dan tahan panas sehingga senyawa ini tetap masih terdapat pada produk pertanian. Demikian pula saat proses pencucian biji kakao dilakukan, dapat menurunkan jumlah jamur tetapi tidak dapat menghilangkan/mengurangi toksin yang sudah terbentuk. Proses pemanasan melalui penjemuran sebenarnya dapat menurunkan kandungan mikotoksin, namun sebagian besar mikotoksin tahan panas.

Hasil temuan beberapa jamur yang tumbuh pada biji kakao diberbagai tataniaga, jamur *Aspergillus* spp, *Penicillium* sp dan *Fusarium* sp perlu mendapat perhatian utama karena jamur tersebut termasuk mikotoksinogenik, yaitu jamur-jamur yang

dapat menghasilkan mikotoksin. Berbeda dengan jamur mikotoksigenik, jamur *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Verticillium* dan *Geotrichum* secara umum tidak menghasilkan mikotoksin dan lebih merupakan jamur yang mengkontaminasi biji kakao saat proses penanganan pascapanen atau jamur yang terikut dari lapang.

Handajani dan Setyaningsih (2006) melaporkan, bahwa jamur *A. niger* dan beberapa jamur lainnya dapat menghasilkan okratoksin, *Aspergillus* sp dan *Penicillium* sp menghasilkan citrinin, *A. flavus* dan beberapa jamur lain menghasilkan aflatoksin serta *A. flavus* menghasilkan asam siklopiazonik. Beberapa mikotoksin yang diproduksi oleh *Penicillium* antara lain okratoksin, aflatoksin, yellow rice toxin, tremorgenic toxin dan patulin. Sementara *Fusarium* menghasilkan antara lain zearaleon, trikhoteken, nivalenol, deoksinivalenol (vomitoksin) dan alimentary toxic aleukia (Dube, 1993; Muis *et al.*, 2002).

Berbagai jenis jamur telah ditemukan pada biji kakao dan mengandung aflatoksin jenis AFB₁ dalam komoditi tersebut. Aflatoksin yang ditemukan pada biji kakao di semua rantai tataniaga menunjukkan bahwa jamur-jamur yang tumbuh pada biji tersebut berpotensi menghasilkan aflatoksin. Jamur-jamur tersebut adalah *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium* sp dan *Fusarium* sp. Temuan sel hidup jamur tersebut merupakan indikasi kuat adanya kandungan aflatoksin pada produk biji kakao kering asal Sulawesi Tengah.

Kandungan aflatoksin yang sangat tinggi pada semua tataniaga biji kakao, baik di tingkat petani (104,798 ppb), pedagang pengumpul (61,305 ppb) maupun eksportir (47,737 ppb), menunjukkan bahwa nilai tersebut melebihi ambang batas yang ditetapkan oleh WHO, yakni sebesar 30 ppb. Ini berarti bahwa mutu biji kakao kering asal Sulawesi Tengah masih jauh di bawah standar yang diharapkan. Oleh karena itu perlu dilakukan upaya perbaikan penanganan pascapanen di semua tingkatan tataniaga biji kakao, hingga kandungan aflatoksin tidak

melebihi standar yang sudah ditetapkan. Aflatoksin dalam kadar tinggi bisa mematikan makhluk hidup yang mengkonsumsinya dan pada kadar rendah dalam jangka panjang bisa menyebabkan kanker hati atau kanker ginjal (Maryam, 2002).

Persyaratan kesehatan makanan di negara-negara maju tidak bisa mentolerir kadar aflatoksin di atas ambang batas yang sudah ditetapkan. Aflatoksin bukan lagi hanya masalah kesehatan semata tapi juga masalah kerugian panen, yang tentunya akan menjadi beban petani karena sikap pasar dan konsumen yang memberi penilaian dan aturan tegas untuk menolak impor produk-produk pertanian yang mengandung aflatoksin, atau diterima namun dengan harga yang lebih rendah. Oleh karena itu kepedulian akan bahaya aflatoksin ini perlu disebarluaskan ke semua pihak.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa jumlah jamur yang menginfeksi biji kakao kering ada 11 spesies, masing-masing di tingkat petani sebanyak 9 spesies, pedagang pengumpul 6 spesies dan eksportir 5 spesies.

Pada ekologi biji kakao kering ditingkat petani ditemukan jamur *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, *Trichoderma* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. dan *Verticillium* sp. Di tingkat pedagang pengumpul dijumpai jamur *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp dan *Mucor* sp. dan di tingkat eksportir ditemukan jamur *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium* sp, *Trichoderma viridae* dan *Geotrichum* sp. Dengan demikian modus kontaminasi jamur terutama berasal dari tingkat petani yang belum menerapkan teknik penanganan pascapanen biji kakao secara tepat. Namun demikian, kontaminasi jamur tersebut ternyata ditemukan pula pada tingkat pedagang pengumpul dan eksportir.

Populasi total jamur mikotoksigenik ditingkat petani, pedagang pengumpul dan

eksportir masing-masing sebesar $1,4 \times 10^9$ cfu/ml, $6,5 \times 10^7$ cfu/ml dan $6,0 \times 10^5$ cfu/ml.

Kandungan aflatoksin B₁ paling tinggi ditemukan pada tingkat petani (104,798 pbb) dari pada di tingkat pedagang pengumpul (61,305 pbb) dan eksportir (47,737 pbb).

Jamur-jamur mikotoksigenik yang ditemukan pada biji kakao kering baik ditingkat petani, pedagang pengumpul maupun eksportir menunjukkan adanya jamur yang berpotensi menghasilkan aflatoksin pada biji kakao kering asal Sulawesi Tengah.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, S. 2006. *Biji Kakao di Jemur atau di Keringkan*. Direktorat Teknologi Proses Industri-BPP Teknologi. Jember.
- Buckel, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet dan M. Wooton. 1995. *Ilmu Pangan*. Terjemahan, Judl Asli: *Food Science*. Penerjemah: H. Purnomo Adiono. UI Press, Jakarta.
- Departemen Perindustrian. 2007. *Kakao*. Pusat Data dan Informasi. Jakarta.
- Dube, H. C. 1983. *An Introduction to Fungi*. 2 nd Rev. Ed. Vikas Publishing House PVT LTD.
- Handajani, N.S, dan R. Setyaningsih. *Identifikasi Jamur dan Deteksi Aflatoksin B₁ terhadap Petis Udang Komersial*. Biodiversitas 7 (3): 212 – 215.
- Haryadi dan M. Supriyanto. 1991. *Pengolahan Kakao Menjadi Bahan Pangan*. Proyek Peningkatan Perguruan Tinggi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Ishak, E dan S. Amrullah. 1985. *Ilmu dan Teknologi Pangan*. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Maryam, R. 2002. *Mewaspada Bahaya Kontaminasi Mikotoksin Pada Makanan*. Falsafah Sains. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Maryam, R. 2006. Pengendalian terpadu kontaminasi mikotoksin. *Wartazoa* 16 (1): 21 – 30.
- Miskiyah dan Widaningrum. 2008. *Pengendalian Aflatoksin pada Pascapanen Jagung Melalui Penerapan HACCP*. *J. Standardisasi* 10 (1): 1 – 10.
- Muhilal dan D. Karyadi. 1985. *Aflatoxin in Nuts and Grains*. *Gizi Indonesia*. Vol X (1): 75 – 79
- Rahmadi, A. dan Graham H. Fleet. 2008. *Miko-ekologi Jamur Penghasil Toksin Dalam Produk Kakao Kering Asal Kalimantan Timur, Sulawesi dan Irian Jaya*.
- Saleh, M. S. 1995. *Teknologi Penanganan Benih Kakao (Theobroma cacao L.)*. Badan Penerbit Universitas Tadulako.
- Semangun, H. 1990. *Ekologi Patogen Tropika dan Pemanfaatannya Dalam Pengendalian Penyakit Tumbuhan*. Fakultas Pertanian Universitas gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sudjadi, S., Machmud, M., Damardjati, D.S., Hidayat, A. Widowati, S., Widiati, A. 1999. *Aflatoxin Research in Indonesia. Elimination of Aflatoxin Contamination in Peanut*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra. Pp. 23 – 25.
- Yusianto, T. Wahyudi dan Sulistyowati. 2008. *Pascapanen. Kakao, Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Penebar Swadaya, Jakarta.