

## Isolasi Cendawan yang Berperan dalam Proses Pembuatan Pliek U (Makanan Fermentasi Khas Aceh)

Muhammad Asril<sup>1\*</sup>, Analekta Tiara Perdana<sup>2</sup>, Mahyarudin<sup>3</sup>, Anja Asmarany<sup>4</sup>, Qurrota A'yun<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Institut Teknologi Sumatera

Jalan Terusan Ryacudu, Way Hui, Jati Agung, Lampung 35365

\*Email: m.asril@bi.itera.ac.id

<sup>2</sup>Jurusan Bioteknologi, Universitas Al-Azhar Indonesia

Komplek Masjid Agung Al-Azhar, Jakarta 12110

<sup>3</sup>Departemen Mikrobiologi, Program Studi Pendidikan Dokter, FK, Universitas Tanjungpura

Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak, Kalimantan Barat 78124

<sup>4</sup>Politeknik Kelautan dan Perikanan Sidoarjo

Jl. Raya Buncitan, Gedangan, Buncitan, Sidoarjo, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur 61254

<sup>5</sup>Program Studi Biologi, Universitas Islam As-Syafi'iyah

Jl. Raya Jatiwaringin No.12, Pondok Gede

### Abstract

Pliek u is a residue product of coconut fermentation by certain microorganisms spontaneously. This fermented product has been utilized for generations by the people of Aceh as cooking ingredients such as vegetable making, processed fish and chili sauce, while the oil produced during the fermentation process is used as medicines. This study aims to determine the type of fungus that acts as a natural fermentor during the process of making pliek u. The fungus was isolated from a fermented coconut substrate for 5 days and grown in Potato Dextrose Agar medium. Macroscopic observation was done by observing the color of spore and misellium color, while microscopic observation was done by slide culture technique that observed the shape and size of spore. The results showed that there were 9 isolates of fungi consisting of 6 isolates of the genus *Aspergillus* i.e *A. niger* 1, *A. niger* 4.1, *A. niger* 5, *A. flavus* 3, *A. flavus* 4.2, *A. flavus* 6. While 3 isolates others are *Penicillium citrinum*, *Thielaviopsis paradoxa* and *Geotrichum candidum*. The existence of this fungus is influenced by the substrate used in the fermentation of pliek u. In addition, also obtained the yellow color of minyeuk simplah and its a byproduct during the process of fermentation pliek u. These results confirm that the fungi that play a role in the process of making pliek u vary greatly depending on the process of manufacture.

**Key Words** : Aceh, fungi, fermentation, *pliek u*

### Abstrak

*Pliek u* merupakan produk residu hasil fermentasi kelapa oleh mikroorganisme tertentu secara spontan. Produk hasil fermentasi ini telah dimanfaatkan secara turun temurun oleh masyarakat Aceh sebagai bahan bumbu masak seperti pembuatan sayur, olahan ikan dan sambal buah-buahan, sedangkan minyak yang dihasilkan selama proses fermentasi dijadikan sebagai obat-obatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis cendawan yang berperan sebagai agen fermentasi alami selama proses pembuatan *pliek u*. Cendawan diisolasi dari substrat kelapa yang telah terfermentasi selama 5 hari dan ditumbuhkan di media *Potato Dextrose Agar*. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati warna spora dan warna misellium, sedangkan pengamatan mikroskopis dilakukan dengan teknik *slide culture* yaitu mengamati bentuk dan ukuran spora. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 9 isolat cendawan yang terdiri dari 6 isolat dari genus *Aspergillus* yaitu *A. niger* 1, *A. niger* 4.1, *A. niger* 5, *A. flavus* 3, *A. flavus* 4.2, *A. flavus* 6. Sedangkan 3 isolat lainnya merupakan *Penicillium citrinum*, *Thielaviopsis paradoxa* dan *Geotrichum candidum*. Keberadaan cendawan ini dipengaruhi oleh substrat yang digunakan pada fermentasi *pliek u*. Selain itu, juga diperoleh *minyeuk simplah* yang berwarna kuning dan merupakan produk samping selama proses fermentasi *pliek u*. Hasil ini menegaskan bahwa cendawan yang berperan dalam proses pembuatan *pliek u* sangat beragam tergantung proses pembuatannya.

**Kata kunci** : Aceh, cendawan, fermentasi, *pliek u*

### Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan makanan fermentasi tradisional. Salah satu makanan fermentasi tradisional khas Indonesia adalah *pliek u* dan *minyeuk pliek u*. *Pliek u* dan *minyeuk pliek u* berasal dari daerah Aceh yang diproduksi melalui proses fermentasi daging buah kelapa (Nurliana *et al.* 2009). Daging buah kelapa secara alami mengandung komponen yang secara fisiologis

bermanfaat (Enig, 2001). Kualitas nutrisi daging buah kelapa tersebut dapat ditingkatkan melalui proses fermentasi salah satunya dengan pembuatan *pliek u*. *Pliek u* banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Aceh sebagai bumbu masak, sambal dan bumbu rujak. Sedangkan *minyeuk pliek u* digunakan sebagai minyak goreng dan sebagai obat untuk sakit kepala, menurunkan panas, sakit persendian, sakit perut dan mengobati luka. Nurliana *et al.*, (2011) melaporkan bahwa *minyeuk simplah*, *minyeuk*

brok memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Proses fermentasi *pliek u* dan *minyeuk pliek u* terjadi secara spontan tanpa penambahan kultur starter. Fermentasi ini merupakan salah satu bentuk teknologi pengawetan makanan yang bertahun-tahun telah dilakukan dan dikonsumsi secara turun temurun oleh masyarakat pedalaman. Proses pembuatan *pliek u* di masing-masing daerah di Aceh berbeda-beda, sehingga kualitas *pliek u* yang dihasilkan belum memiliki standar baku yaitu berwarna coklat kehitaman, tidak berbau tengik, teksturnya tidak padat (terurai) serta memiliki cita rasa yang khas (Rinaldi *et al.*, 2016). Hal ini disebabkan oleh proses fermentasi yang dilakukan oleh masyarakat masih menggunakan alat-alat sederhana dan dalam kondisi terbuka, sehingga kontaminasi oleh mikroorganisme lain tidak dapat dikontrol.

Mikroorganisme memiliki peran yang penting dalam keberhasilan proses pembuatan *pliek u*. Salah satu kelompok mikroba yang berperan dalam pembuatan *pliek u* adalah cendawan. Jenis cendawan yang dapat menggunakan daging buah kelapa sebagai substrat pertumbuhannya adalah *Aspergillus niger* yang menyebabkan warna hitam pada permukaan buah kelapa dan *Aspergillus flavus* yang dapat menyebabkan warna hijau pada permukaan daging buah kelapa (Samosir, 1991). Selain itu juga dijumpai jenis *Geotrichum* sp. *Cladosporium* sp. *Paecilomyces* sp. *Acremonium* sp. *Curvularia* sp. *Penicillium* sp. *Chromelosporium* sp. *Mucor* sp. *Mortierella* sp. (Rinaldi *et al.*, 2016). Substrat kelapa yang ditumbuhi mikroba dan terfermentasi dengan baik dapat dijadikan sebagai produk makanan.

Produk makanan fermentasi tradisional merupakan salah satu sumber utama untuk mendapatkan mikroba berpotensi. Isolat-isolat yang berpotensi perlu dimurnikan, dipelihara di suatu koleksi biakan (*culture collection*) agar setiap waktu dapat dimanfaatkan dan sifat-sifat unggulnya tidak mengalami perubahan (Ganjar, 2007). Fermentasi *pliek u* dari bahan dasar kelapa tidak terlepas dari mikroorganisme khususnya cendawan yang berperan di dalamnya. Oleh karena itu, langkah awal untuk mengetahui potensi cendawan dalam proses fermentasi *pliek u* dan *minyeuk pliek u* adalah isolasi dan identifikasi cendawan yang berperan dalam proses fermentasi tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari proses pembuatan *pliek u* serta mengisolasi dan mengidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis cendawan yang berperan dalam proses fermentasi *pliek u* tersebut.

## Metode Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain buah kelapa tua sebanyak 5 buah, media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan akuades. Sedangkan tahap-tahap yang dilakukan pada penelitian ini yaitu pembuatan *pliek u* dan *minyeuk pliek u*, isolasi dan subkultur cendawan asal kelapa yang diinkubasi selama 4-5 hari dan identifikasi mikroskopis dan makroskopis isolat.

### Pembuatan *Pliek u* dan *Minyeuk Pliek u*

Daging kelapa yang telah difermentasi selama 4-5 hari diamati warna dan aromanya, kemudian dikukur dan difermentasi kembali selama 4-5 hari pada suhu kamar (29-36 °C), ditempatkan dalam wadah tertutup dan dikondisikan tidak terpapar cahaya. Setiap hari selama proses fermentasi, ampas kelapa diperas untuk diambil *minyeuk simplahnya*. Tahap berikutnya yaitu dilakukan penjemuran, pengeraman dan pengepresan. Inkubasi yang diperlukan untuk fermentasi tahap ini yaitu selama  $\geq 5$  hari pada suhu kamar (29 – 36 °C). Fermentasi tahap ketiga ini menghasilkan minyak yang disebut *minyeuk brok*, sedangkan residu yang diperoleh disebut *pliek u*. *Pliek u* kemudian diamati warna, aroma dan rasanya.

### Isolasi dan Subkultur Cendawan Asal Kelapa Hasil Fermentasi

Metode isolasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode isolasi langsung dari buah kelapa yang digunakan selama proses pembuatan *pliek u*. Sebanyak empat buah kelapa tua dibelah tanpa merusak tempurungnya. Air kelapa dibuang dan kelapa difermentasi selama 4-5 hari pada suhu 29-36°C pada kondisi gelap. Koloni yang tumbuh pada daging kelapa diamati secara makroskopis, kemudian diisolasi secara langsung dan diinokulasi pada media PDA. Isolat-isolat yang tumbuh dipurifikasi dengan cara subkultur ke media PDA miring.

### Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Cendawan

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati warna spora, warna misellium, sedangkan pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengamati morfologi cendawan, bentuk dan ukuran spora. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pembuatan preparat langsung dengan cara mengambil isolat tersebut dan diletakkan pada gelas benda. Morfologi cendawan yang terlihat secara mikroskopis yang berhasil teramati kemudian didokumentasikan menggunakan kamera digital dan diidentifikasi menggunakan buku *Fungi and Food Spoilage* (Pitt dan Hocking, 2009).

## Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan kelapa yang sudah difermentasi selama 5 hari diperoleh memiliki warna kelapa yang beragam dan aroma yang sama yaitu wangi dan asam (Tabel 1). Kelapa hasil fermentasi selama 4-5 hari menghasilkan aroma wangi dan perubahan warna menjadi hitam dan kuning. Hal ini disebabkan adanya cendawan yang tumbuh pada kelapa tersebut dan dapat menghasilkan enzim-enzim seperti enzim lipase yang berperan dalam reaksi hidrolisis trigliserida dan sintesis ester dari gliserol dan asam-asam lemak rantai panjang (Gunasekaran & Das, 2005). Aktivitas enzim ini dipengaruhi oleh adanya nutrisi yang terkandung dalam kelapa. Kelapa mengandung vitamin C yang dapat menstimulasi produksi enzim lipase (Kakde & Chavan, 2011).

Tabel 1. Hasil pengamatan kelapa setelah lima hari inkubasi

Sampel	Aroma	Warna kelapa
Klp 1	Wangi, asam	Kuning dan hitam
Klp 2	Wangi, asam	Kuning dan hijau
Klp 3	Wangi, asam	Putih dan hitam
Klp 4	Wangi, asam	Hijau dan hitam
Klp 5	Wangi, asam	Krem

Hasil fermentasi kedua yang menghasilkan *minyeuk simplah* menghasilkan aroma yang khas menyengat *pliek u* dan warna yang lebih gelap. Hal ini disebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada parutan kelapa hasil fermentasi. Reaksi oksidasi terjadi pada komponen lemak dan air pada parutan kelapa yang terfermentasi pada kondisi suhu yang meningkat. Proses fermentasi didukung oleh adanya enzim lipase yang dihasilkan oleh cendawan pada parutan kelapa. Warna *minyeuk simplah* yang diperoleh berwarna

kuning cerah, seharusnya hasil yang diperoleh berwarna bening. Perbedaan hasil tersebut diduga karena minyak yang diperoleh masih bercampur dengan santan.

Setelah dilakukan pengamatan morfologi cendawan pada kelapa dan dilakukan isolasi, koloni yang didapat dilakukan pemurnian sehingga diperoleh koloni tunggal. Hasil pemurnian dilakukan pada media PDA yang diinkubasi selama 5 hari. diperoleh 9 isolat dengan ciri-ciri pada **Tabel 2**. Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa diameter koloni dan ukuran spora isolat *pliek u* cukup beragam.

Hasil identifikasi makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa dari 9 isolat yang diperoleh terdapat 5 spesies cendawan yaitu, *Aspergillus niger* (1, 4.1 dan 5) (Gambar 2), *A. flavus* (3, 4.2 dan 6) (Gambar 4), *Penicillium citrinum*, *Thielaviopsis paradoxus* dan *Geotrichum candidum* (Gambar 7). Rinaldi *et al.* (2016) melaporkan bahwa terdapat 6 (enam) spesies cendawan yang berperan dalam proses pembuatan *pliek u* diantaranya *Microascus* sp. *Sordaria* sp. *Curvularia* sp., *Thicurus* sp., *Acremonium* sp. dan *Gonytrichum* sp. Dalam penelitian lainnya Rinaldi *et al.* (2016) juga melaporkan bahwa terdapat beberapa spesies cendawan ditemukan dalam proses pembuatan *pliek u* seperti *Geotrichum* sp. *Aspergillus* sp. *Cladosporium* sp. *Paecilomyces* sp. *Acremonium* sp. *Curvularia* sp. *Penicillium* sp. *Chromelosporium* sp. *Mucor* sp. *Mortierella* sp. Perbandingan dengan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ada 3 spesies cendawan yang ikut terisolasi pada penelitian kali ini yaitu *Geotrichum* sp. *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. Hal ini menunjukkan bahwa beberapa cendawan yang memang akan muncul pada substrat kelapa.

Tabel 2. Karakterisasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis isolat *Pliek u* pada media PDA

Jenis	Warna Koloni	Diameter koloni (mm)	Warna Spora	Panjang spora (µm)	Lebar spora (µm)
<i>A. niger</i> 1	Miselia putih	45	Hitam	6.0 – 8.0	6.0 – 8.0
<i>Penicillium citrinum</i>	Miselia putih	26	Hijau daun	2.0 – 4.0	2.0 – 4.0
<i>A. flavus</i> 3	Miselia Putih	27	Hijau daun	3.0 – 4.0	3.0 – 4.0
<i>A. niger</i> 4.1	Miselia putih	29	Hitam	6.6 – 9.9	6.6 – 9.9
<i>A. flavus</i> 4.2	Miselia putih	20	Hijau daun	3.0 – 4.0	3.0 – 5.0
<i>A. niger</i> 5	Miselia putih	38	Hitam	3.0 – 4.0	3.0 – 4.0
<i>A. flavus</i> 6	Miselia putih	37	Hijau kekuningan	6.6 – 8.25	6.6 – 9.9
<i>Thielaviopsis paradoxa</i>	Miselia Hitam	50	Hitam	5.0 – 10.0	5.0 – 10.0
<i>Geotrichum candidum</i>	Putih	50	Putih	9.9 – 10.5	6.6 – 7.0

Keragaman cendawan yang ditemukan dalam proses pembuatan *pliek u* tidak lepas dari substrat kelapa yang digunakan. Cendawan memerlukan nutrisi untuk mendukung pertumbuhannya, nutrisi berupa unsur-unsur atau senyawa kimia dari lingkungan digunakan sel sebagai konstituen kimia penyusun sel (Gandjar *et al.* 2006). Kelapa memiliki komponen fungsional penting tersebut terletak pada lemak kelapa yang terdapat pada daging buah. Komposisi daging buah kelapa terdiri dari asam lemak jenuh rantai pendek dan rantai sedang, yaitu masing-masing terdiri dari panjang rantai karbon C14, C12, C10, C8 dan C6, yang tidak berdampak negatif bagi kesehatan selain itu, Kelapa merupakan bahan yang banyak mengandung nutrisi termasuk karbohidrat sebagai sumber pertumbuhan cendawan. Nutrisi yang cukup mampu digunakan oleh salah satu genus yang berhasil diisolasi yaitu *Aspergillus*. Keberadaan genus *Aspergillus* dapat menimbulkan kerusakan pada kelapa yang basah (Samosir, 2012). Kerusakan ini yang dibutuhkan untuk tahap selanjutnya pada fermentasi.

Berdasarkan pengamatan dan kunci identifikasi (Gambar 1), terdapat 3 spesies cendawan dari genus ini yaitu *A. niger* 1, 4.1 dan 5. Pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa *A. niger* memiliki ciri miseliumnya putih dengan spora yang berwarna hitam (Gambar 2). Pengamatan mikroskopis menunjukkan vesikula berwarna gelap hitam dan batas antara metula, fialid serta konidiumnya tidak dapat dibedakan. Sementara itu konidiofor terlihat dengan jelas. Hasil pengamatan spora menunjukkan bahwa ukuran spora pada *A. niger* adalah 6-9  $\mu\text{m}$ . Hal ini sesuai dengan pernyataan Pitt dan Hocking (2009) bahwa ukuran spora pada *A. niger* yaitu 7-10  $\mu\text{m}$ . Menurut Pitt dan Hocking (2009), *A. niger* dapat membentuk koloni dengan dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Konidiospora panjangnya 900-1600  $\mu\text{m}$  dan berdinding halus. Konidia berwarna hitam, bentuk bulat, cenderung merekah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar pada koloni yang berumur tua. Vesikula berbentuk bulat hingga semi bulat dengan diameter 30-75  $\mu\text{m}$ , fialid terbentuk pada metula. Metula berwarna hialin hingga coklat dan seringkali bersepta. Konidia berbentuk bulat hingga semi bulat diameter 4-5  $\mu\text{m}$ , berwarna coklat sampai hitam, memiliki ornamentasi berupa tonjolan dan duri-duri yang tidak beraturan.

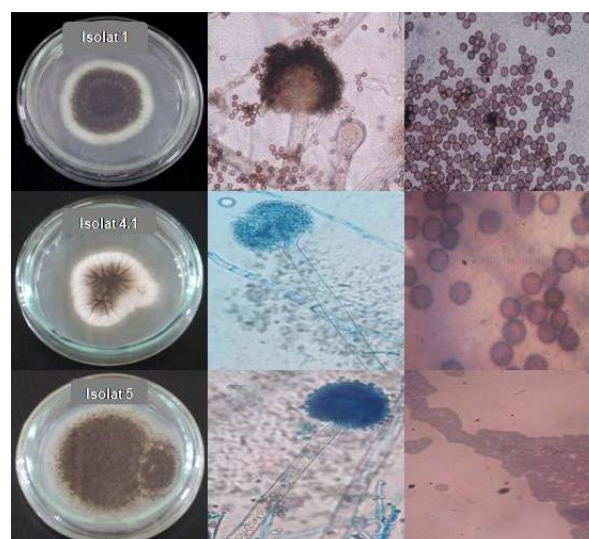
Pertumbuhan *A. niger* pada proses fermentasi ditandai dengan adanya miselium. *A. niger* menyebabkan warna hitam pada permukaan buah kelapa. Secara visual pertumbuhan miselium dapat dilihat dengan timbulnya serabut-serabut menyerupai benang halus dan memadatnya ampas. Novalia (2011)

melaporkan bahwa persentase *A. niger* pada *pliek u* yang disimpan selama 7 sampai 10 hari sebanyak 10,5%, 2 sampai 5 minggu sebesar 24,0% dan 6 sampai 9 bulan sebesar 26,6%. Perlakuan fermentasi menghasilkan struktur, warna, bau, dan juga komposisi kimia yang berbeda dari kelapa yang belum difermentasi, terutama dalam meningkatkan kadar protein dan menurunkan lemak. Purwadaria *et al.* (1995) menyebutkan bahwa kelapa yang difermentasi dengan *A. niger* mampu meningkatkan kadar protein. Menurut Sudarmadji *et al.* (1989) efektifitas proses enzimatik juga dipengaruhi oleh suhu optimum berkembangnya *A. niger* yaitu 35 – 37°C.

#### Kunci identifikasi *Aspergillus niger*

1	Diameter koloni dalam media CYA pada kedua suhu 25 dan 37 °C melebihi 35mm.....	2
	Diameter koloni dalam media CYA pada kedua suhu 25 dan 37 °C Tidak melebihi 35 mm.....	12
2(1)	Warna koloni hitam atau abu-abu.....	3
	Warna koloni putih atau berwarna.....	6
3(2)	Warna koloni hitam, diameter koloni pada suhu 25°C lebih dari 50 mm.....	4
	Warna koloni abu-abu, diameter koloni pada suhu 25°C lebih dari 50 mm.....	..... <i>A. ustus</i>
4(3)	Vesikel menghasilkan metula dan fialid.....	5
	Vesikel menghasilkan fialid saja.....	<i>A. aculeatus</i> <i>A. japonicus</i>
5(4)	Diameter konidia kurang dari 6 $\mu\text{m}$ .....	<i>A. niger</i>
	Diameter konidia lebih dari 6 $\mu\text{m}$ .....	<i>A. carbonarius</i>

Gambar 1. Kunci Identifikasi *Aspergillus niger*.



Gambar 2. Spesies *Aspergillus niger* pada isolat 1, 4.1 dan 5. Koloni cendawan di media PDA umur 4 hari (kiri), struktur mikroskopis perbesaran 400x (tengah), (c) konidia (kanan).

Faloni *et al.* (2006) menyatakan bahwa *A. niger* mampu memproduksi enzim lipase. Enzim lipase ini berperan sebagai katalis pada reaksi hidrolisis trigliserida serta sintesis ester dari gliserol dan asam-asam lemak rantai panjang. Enzim lipase juga berperan sebagai biokatalis dalam reaksi alkoholisis dan aminolisis (Gunasekaran & Das 2005).

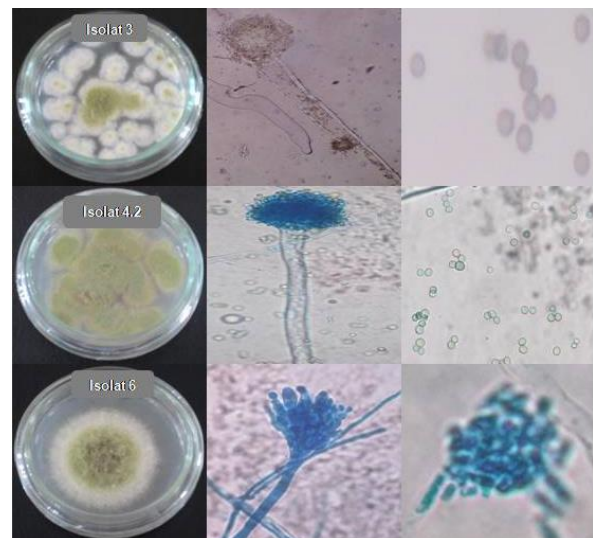
Produksi enzim lipase oleh *A. niger* dipengaruhi oleh sumber nutrisi yang digunakan. Kakde dan Chavan (2011) menyatakan bahwa sumber karbon seperti fruktosa dan sukrosa akan menginduksi aktivitas enzim sedangkan pati dan laktosa akan menghambat aktivitas enzim. Sumber nitrogen seperti kasein dan pepton akan meningkatkan produksi enzim. Sumber belerang seperti kalsium sulfat, besi (II) sulfat dan antibiotik (ampisilin, tetrasiklin dan norfloxasin) akan menurunkan produksi enzim. Sedangkan sumber vitamin (riboflavin, asam folat dan vitamin C) akan menstimulasi produksi enzim lipase pada *A. niger*.

Selain *A. niger*, juga ditemukan cendawan lain dari spesies yang berbeda yaitu *A. flavus* (3, 4.2 dan 6). Berdasarkan pengamatan makroskopis dan pembuatan kunci identifikasi (Gambar 3) pada koloni *A. flavus* menunjukkan miselia berwarna putih dan spora berwarna hijau keabuan (Gambar 4). Hal ini sesuai dengan pernyataan Pitt dan Hocking (2009) bahwa koloni *A. flavus* berwarna hijau keabu-abuan, hijau kekuningan dan putih kekuningan. *A. flavus* dapat menyebabkan warna hijau pada permukaan daging buah kelapa. Sifat morfologis *A. flavus* yaitu bersepta, miselia bercabang tidak berwarna, konidiofor muncul dari kaki sel, sterigmata sederhana atau kompleks dan berwarna atau tidak berwarna, konidia berbentuk rantai, berwarna hijau, coklat atau hitam (Smith dan Pateman 1977). Pengamatan mikroskopis *A. flavus* menunjukkan bahwa panjang konidiofor yaitu 400-800 µm dan relatif kasar, bentuk kepala konidial bervariasi (bentuk kolom, radial, dan bentuk bola), hifa berseptum, dan koloni kompak. Ukuran spora pada *A. flavus* berkisar antara 3-4 µm. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ganjar *et al.* (2007) bahwa spora *A. flavus* berdiameter 3,6 µm. Koloni dari *A. flavus* umumnya tumbuh dengan cepat dan mencapai diameter 6-7 cm dalam 10-14 hari. Kapang ini memiliki warna permukaan kuning yang akan berubah menjadi kuning kehijauan atau coklat dengan warna inversi coklat keemasan atau tidak berwarna, sedangkan koloni yang sudah tua memiliki warna hijau tua (Ruiqian *et al.* 2004).

#### Kunci identifikasi *Aspergillus flavus*

1	Diameter koloni dalam media CYA pada kedua suhu 25 dan 37 °C melebihi 35mm.....	2
	Diameter koloni dalam media CYA pada kedua suhu 25 dan 37 °C Tidak melebihi 35 mm.....	12
2(1)	Warna koloni hitam atau abu-abu.....	3
	Warna koloni putih atau berwarna.....	6
6(2)	Warna koloni putih.....	Genus <i>Neosartorya</i>
	Warna koloni berwarna.....	7
7(6)	Warna koloni biru.....	<i>A. fumigatus</i>
	Warna koloni kuning, hijau atau coklat.....	8
8(7)	Konidia hijau gelap; terdapat pembentukan kleistotesia, tercapit oleh sel seperti kladidokonidia (sel hulle).....	Genus <i>Emiricella</i>
	Konidia kuning, kuning hijau atau coklat; tidak terdapat pembentukan kleistotesia.....	9
9(8)	Konidia kuning hijau atau kuning.....	10
	Konidia kuning coklat atau coklat zaitun.....	11
10(9)	Konidia dengan dinding relatif tipis, halus atau sedikit kasar, berbentuk seperti bola sampe elip halus; diameter vesikel mencapai 50 nm, biasanya terdapat metula.....	<i>A. flavus</i> <i>A. oryzae</i> <i>A. nominus</i>

Gambar 3. Kunci Identifikasi *Aspergillus flavus*



Gambar 4. Spesies *Aspergillus flavus* pada isolat 3, 4.2 dan 6. Koloni cendawan di media PDA umur 5 hari (kiri), struktur mikroskopis perbesaran 400x (tengah), (c) konidia (kanan).

Novalia (2011) menunjukkan bahwa persentase keberadaan *A. flavus* pada *pliek u* yang disimpan selama 7 sampai 10 hari yaitu 15,8%. Penyimpanan selama 2 sampai 5 minggu sebanyak 39,6% dan penyimpanan selama 6 sampai 9 bulan sebanyak 61,7%. Pada dasarnya, *A. flavus* menghasilkan senyawa aflatoxin termasuk ke dalam mikotoksin yang sangat berbahaya. Aflatoxin ini mampu menyebabkan karsinogenik dan hepatotoksisitas (Khan *et al.*, 2010). Kandungan aflatoxin pada *pliek u* yang disimpan selama 6 sampai 9 bulan yaitu, B1 < 0,5, B2 < 1, G1 < 0,5 dan G2 < 1 (ppb). Akan tetapi, belum ada laporan tentang keracunan aflatoxin yang disebabkan karena mengkonsumsi *pliek u*. Berdasarkan Commission Regulation (EC) No. 466/2001 dan 683/2004 kadar maksimum aflatoxin yang dapat ditoleransi

tubuh pada cereal dan produk yang telah diproses yang dapat dikonsumsi secara langsung atau sebagai bahan makanan yaitu B1 2 ug/kg, B1+B2+G1+G2 sebesar 4 ug/kg. Sedangkan menurut US Food and Drug Administration (FDA) batasan aflatoksin dalam makanan sebesar 20 ug/kg, ppb (Park, 1993). Hal ini menunjukkan bahwa kadar aflatoksin pada *pliek u* masih dalam batas toleransi.

Selain itu, cara konsumsi dan proses pembuatan *pliek u* juga ikut mengurangi tingkat keracunan yang disebabkan oleh aflatoksin. Kadar aflatoksin dapat diturunkan dengan berbagai cara diantaranya: dengan pemanasan yang mampu menurunkan 70% kadar aflatoksin dan dikeringkan mampu menurunkan 60% kadar aflatoksin (Sinha & Bhatnagar 1998). Beberapa laporan terkait pengujian *pliek u* terhadap organ tubuh diantaranya pemberian *pliek-u* tidak menurunkan jumlah mikroba saluran pencernaan dan tidak toksik terhadap hati dan ginjal mencit (Nurliana *et al.*, 2014) serta tidak memiliki efek pada usus halus ayam broiler (Zul *et al.*, 2012). Pengujian pada hewan ini sudah lazim digunakan untuk melihat akumulasi aflatoksin didalam hati dan otot (Hussain *et al.* 2010). Dalam hal ini, bahwa keberadaan agen fermentasi *Aspergillus flavus* masih dalam keadaan normal dan belum ada laporan terkait keracunan akibat aflatoksin yang dihasilkan.

Selain *A. flavus* juga ditemukan spesies *Penicillium citrinum*. Pengamatan makroskopis dan kunci identifikasi (Gambar 5) menunjukkan bahwa pada koloni *P. citrinum* memiliki ciri-ciri miselia putih dan spora berwarna hijau. *P. citrinum* mampu menghasilkan eksudat berwarna jingga setelah diinkubasi selama 14 hari (Gambar 7). Hal ini sesuai dengan pernyataan Pitt dan Hocking (2009) bahwa koloni *P. citrinum* yang tumbuh pada media memiliki miselia yang berwarna putih dan konidia berwarna hijau. Cendawan ini juga mampu menghasilkan eksudat dengan warna kuning pucat atau coklat pucat hingga coklat kemerahan. Konidiofor tumbuh dari bawah permukaan (*subsurface*) atau permukaan (*surface*) hifa. Panjang stipe 100-300 µm, berdinding halus, mempunyai metula berjumlah 3-5 yang divergen membentuk suatu whorl. Fialid berbentuk botol dan konidia terbentuk dalam kolom-kolom, berbentuk bulat hingga semi-bulat, hialin berwarna hingga kehijauan. Spora *P. citrinum* (Tabel 3) berukuran 2,0-4,0 µm. Pitt dan Hocking (2009) menyatakan bahwa spora pada *P. citrinum* berukuran 2,2-3,0 µm. Genus *Penicillium* sangat aktif memproduksi enzim selulase pada pH 6,0 (Alfiah dan Kuswyasari, 2013).

Flores-Gallegos *et al.* (2012) menyatakan bahwa *P. citrinum* ESS memproduksi inulinase ekstraseluler dengan aktivitas enzimatis tertinggi yaitu 18,7 U/ml pada inkubasi 48 jam dan suhu 30 °C. Inulinase adalah enzim yang berperan untuk

produksi fruktosa dan fruktooligosakarida, kedua senyawa ini digunakan dalam bidang farmasi dan industri makanan. Singh dan Gill (2006) juga mengatakan bahwa *Aspergillus* spp juga mampu memproduksi inulinase yang stabil pada suhu tinggi. *Penicillium* sp. juga dapat mengubah asam lemak menjadi senyawa yang menghasilkan aroma (Vandamme 2003). Aroma khas *pliek u* dan minyaknya diduga berasal dari senyawa yang dihasilkan oleh *Penicillium citrinum*.

#### Kunci identifikasi *Penicillium citrinum*

1	Pinicilli sebagian besar terminal verticils dari metula.....	2
	Pinicilli sebagian besar irregular.....	7
2(1)	Diameter koloni dalam media CYA pada suhu 25°C lebih dari 35 mm.....	3
	Diameter koloni dalam media CYA pada suhu 25°C tidak lebih dari 35 mm.....	5
5(2)	Pinicilli dengan verticils 5-8 metula.....	<i>P. paxilli</i>
	Pinicilli tidak lebih dari 5-8 metula.....	6
6(5)	Diameter koloni dalam media MEA lebih dari 25 mm; metula kerap kali panjangnya tidak sama.....	<i>P. corylophilum</i>
	Diameter koloni dalam media MEA kurang dari 25 mm; metula panjangnya sama.....	<i>P. citrinum</i>

Gambar 5. Kunci Identifikasi *Penicillium citrinum*

Berdasarkan pengamatan makroskopis dan kunci identifikasi (Gambar 6) pada koloni *G. candidum* dengan ciri-ciri miselia putih dan spora berwarna putih (Gambar 7). Pitt dan Hocking (2009) menyatakan bahwa koloni cendawan ini memiliki ukuran yang bervariasi pada media PDA yaitu diameter antara 20-45 mm. Permukaan koloni datar dan miselia berwarna putih. Konidiofor merupakan hifa yang tidak terdiferensiasi pada saat fragmentasi. Konidiofor yang matang membentuk arthrokonidia yang berhialin, dan silindris. Ukuran koloni *G. candidum* yang diperoleh adalah 50 mm. Pitt dan Hocking (2009) menyatakan bahwa *G. candidum* memiliki ukuran koloni > 45 mm. Pada beberapa isolat membentuk teleomorf yaitu *Galactomyces geotrichum* yang terdiri dari askospora tunggal dengan asci yang soliter.

*G. candidum* tersebar luas pada berbagai macam makanan termasuk minyak kelapa (Khoramnia *et al.* 2013), daging, keju dan berbagai macam makanan fermentasi. *G. candidum* memiliki kemampuan lipolitik yang mampu mengubah minyak kelapa menjadi MCFAs (Medium Chain Fatty Acid) yang dapat diaplikasikan secara luas (Khoramnia *et al.* 2013), kemampuan lipolitik dari *G. candidum* ini diduga berperan penting dalam proses fermentasi *pliek u*.

Aroma khas yang terdapat pada *pliek u* dan minyaknya diduga salah satunya berasal dari senyawa sulfur yang diproduksi oleh *G. candidum*. Berger *et al.* (1999) dalam penelitiannya menyatakan bahwa *G. candidum*

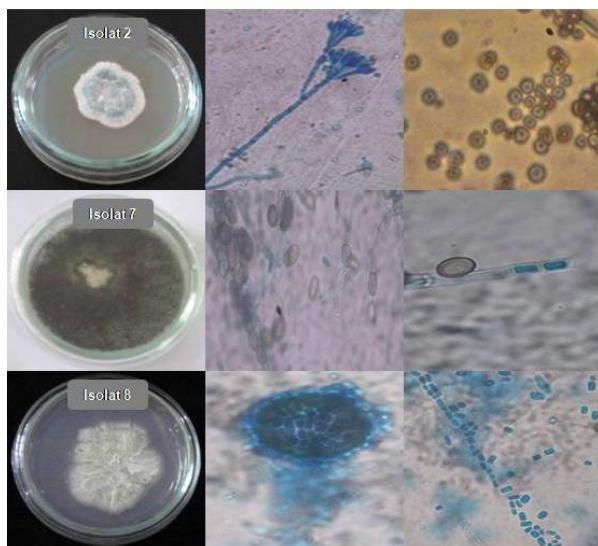
memproduksi senyawa sulfur yang berkontribusi dalam memberikan aroma yang khas pada keju. Keberadaan *G. candidum* diduga berasal dari lalat rumah yang menjamah substrat kelapa sebelum fermentasi. Hal ini dikarenakan *Geotrichum* ditemukan pada usus lalat rumah (*Musca domestica* L.) (Melsilawati dkk. 2012).

Selain *G. candidum* juga ditemukan *T. paradoxa*. Pengamatan makroskopis pada koloni *T. paradoxa* mempunyai ciri-ciri miselia putih dan

spora berwarna hitam (Gambar 7). Ellis (1971) menyatakan bahwa koloni *T. paradoxa* berwarna coklat gelap hingga hitam. Konidiofor ada yang tidak berwarna hingga coklat pucat, dengan ukuran 50x4-6 µm. Arthrokonidia berbentuk *ellips* hingga *obovoid*, warna coklat sedang hingga coklat tua, dinding sel agak tebal, ukuran 10-25 x 4-6µm. Panjang fialid mencapai 200µm dan tebal 8-10 µm.

Kunci identifikasi <i>Geotrichum candidum</i>		Kunci identifikasi <i>Thielaviopsis paradoxa</i>	
1	Diameter koloni dalam media CYA dan MEA tidak melebihi 60 mm dalam waktu 7 hari.....2	1	Konidia lebih dari 2 sel.....2
	Diameter koloni dalam media CYA dan MEA melebihi 60 mm dalam waktu 7 hari.....12		Konidia 1 sel.....5
12(1)	Spora dihasilkan dalam keadaan tertutup tubuh buah di dalam atau di bawah permukaan hifa.....13	5(1)	Konidiospora dengan inflasi sel apikal menghasilkan banyak phialide..... <i>Aspergillus</i>
	Spora dihasilkan dari permukaan hifa.....17		Konidiospora tanpa inflasi sel apikal.....6
17(12)	Koloni dan atau hifa konidia berwarna cerah.....18	6(5)	Konidia berpigmen.....7
	Koloni dan atau hifa konidia berwarna gelap.....22		Konidia hialin (bening, tembus pandang, tidak berwarna).....11
18(17)	Koloni dengan area abu-abu atau hijau.....19	11(6)	Konidia globose..... <i>Cladorhinum</i>
	Koloni putih, orange, pink atau ungu.....20		Konidia tidak globose.....12
20(18)	Koloni sedikit dan terus menerus putih..... <i>Geotrichum candidum</i>	12(11)	Konidia berbentuk perahu atau bulan sabit, dengan atau tanpa tambahan..... <i>Codinaea</i>
	Koloni mengumpul, putih atau berwarna cerah.....21		Konidia tidak berbentuk perahu atau bulan sabit, dengan atau tanpa tambahan.....13
		13(12)	Konidia clavate.....14
			Konidia tidak clavate.....16
		14(13)	Konidia tidak berkumpul (catunilate).....15
			Konidia berkumpul dalam satu massa spora..... <i>Stachybotryna</i>
		15(14)	Klamidospora di dalam kantung..... <i>Chalara</i>
			Klamidospora tidak berkumpul (catunilate)..... <i>Thielaviopsis</i>

Gambar 6. Kunci Identifikasi *Geotrichum candidum* dan *Thielaviopsis paradoxa*



Gambar 7. Spesies *Penicillium citrinum* (isolat 2), *Thielaviopsis paradoxa* (isolat 7), *Geotrichum paradoxa* (isolat 8). Koloni cendawan di media PDA umur 4 hari (kiri), struktur mikroskopis perbesaran 400x (tengah), (c) konidia atau arthroconidia (kanan).

## Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada substrat kelapa dalam pembuatan *pliek u* diperoleh 9 (sembilan) isolat cendawan yang digolongkan ke dalam 4 (empat) genus. Terdapat 6 isolat dari genus *Aspergillus* yaitu *A. niger* 1, *A. niger* 4.1, *A. niger* 5, *A. flavus* 3, *A. flavus* 4.2, *A. flavus* 6. Sedangkan 3 (tiga) isolat lainnya merupakan *Penicillium citrinum*, *Thielaviopsis paradoxa* dan *Geotrichum candidum*.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih yang sangat mendalam kepada Prof. Ir. Lisdar I. Sudirman, Dina Fitriyah, M.Si, Rika Fithri Nurani M.Si, Nezharia Nurza Harca, M.Si dan Ira Erdiandini, M.Si yang ikut membantu memberikan saran dan membantu dalam proses identifikasi dalam proses pembuatan *pliek u ini*.

## Daftar Referensi

- Alfiah, I. & Kuswytasari., 2013. Produksi ezim selulase oleh *Penicillium* sp. pada suhu, pH dan limbah pertanian yang berbeda. *Skripsi*. Surabaya: ITS.
- Berger, C., Jeffrey, A.K., Molimard, P., Martin, N. and Spinnler, H.E., 1999. Production of sulfur flavors by ten strains of *Geotrichum candidum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:5510.
- Commission Regulation (EC) No 466/2001 of 8 March. Aflatoxins in Foodstuffs. Official Journal of the European Communities. 16/03/2001, L77/1.
- Commission Regulation (EC) No 683/2004 of 13 April. Amending Regulation (EC) No 466/2001 as regards aflatoxins and ochratoxin A in foods for infants and young children. Official Journal of the European Communities. 14/04/2004, L106/3.
- Ellis, M.B., 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. England: Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Enig, M.G., 2001. Coconuts: In Support of Good Health in the 21st Century. *Mercola* [internet]. [diunduh 6 November 2017]. Tersedia pada: <http://articles.mercola.com/>
- Faloni, G., Armas, J.C., Mendoza, J.C.D. & Hernandez, J.L.M., 2006. Production of extracellular lipase from *Aspergillus niger* by solid state fermentation. *Food Tech. Biotech.* 44:235-240.
- Flores-Gallegos, A.C., Morlett-Chavez, J., Aguilar, C.N. & Rodriguez-Herrera, R., 2012. Inulinase production by a Mexican semi-desert xerophytic *Penicillium citrinum* strain under submerged culture. *Adv J Food Sci Tech.* 4:46-50.
- Ganjar, I., 2007. *Pengelolaan Plasma Nutfah Mikroorganisme sebagai Aset Pemenuhan Kebutuhan Manusia*. Jakarta: Komisi Nasional Sumber Daya Genetik (KNSDG).
- Gandjar, I., Wellyzar, S. & Ariyanti O., 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Gunasekaran, V. & Das, D., 2005. Lipase fermentation: progress and prospects. *Indian J Biotech.* 4:437-445.
- Hussain, Z., Khan, M.Z., Khan, A., Javed, I., Saleemi, M.K., Mahmood, S. & Asi, M.R. 2010. Residues of aflatoxin B1 in broiler meat: Effect of age and dietary aflatoxin B1 levels. *Food and Chemical Toxicology.* 48: 3304-3307.
- Kakde, R.B., Chavan, A.M., 2011. Effect of carbon, nitrogen, sulphur, phosphorus, antibiotic and vitamin sources on hydrolytic enzyme production by storage fungi. *Recent Research Sci Tech.* 20-28
- Khan, W.A., Khan, M.Z., Khan, A. & Hussain, I., 2010. Pathological effects of aflatoxin and their amelioration by vitamin E in White Leghorn layers. *Pak. Vet. J.* 30: 155–162.
- Khoramnia, A., Ebrahimipur, A., Ghanbari, R., Ajdari, A. & Lai O.M., 2013. Improvement of medium chain fatty acid content and antimicrobial activity of coconut oil via solid-state fermentation using a Malaysian *Geotrichum candidum*. *Biomed Rese. Intl.* 2013: 1-9.
- Melsilawati, W., Siti, K & Rizalinda., 2012. Jamur yang etrdapat pada tubuh lalat rumah (*Musca domestica* L.,1758). *Jurnal Protobiont.* 1:12-19
- Novalia, V., 2011. Pengaruh waktu penyimpanan *Pliek U* terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus niger*. [skripsi]. Universitas Syiah Kuala.
- Nurliana, Rinidar & Masyita, D., 2011. Anticandidal in vitro test of crude ethanol extract of pliek u on the growth of *Candida albicans*. *Proceeding of the Annual International Conference Syiah Kuala University.* 1(1): 59-63.
- Nurliana, Sudarwanto, M., Sudirman, L.I. & Sanjaya, A.W., 2009. Prospek makanan tradisional Aceh sebagai makanan kesehatan: deteksi aktivitas antimikrob minyak *pliek u* dan ekstrak kasar dari *pliek u*. *Forum Pascasarjana.* 32: 1-10.
- Nurliana, Estuningsih, S., Sugito & Masyitha, D. 2014. Stabilitas mikrob usus, histology hati dan ginjal mencit setelah pemberian ekstrak pliek u bumbu masak tradisional Aceh. *Jurnal Veteriner.* 15(3): 370-379.
- Nurliana, Rabfiani, S. & Hanafiah, M., 2002. Karakterisasi awal bakteriosin produksi bakteri asam laktat yang diisolasi dari *pliek u*. *J Sain Vet.* 20: 30-34.
- Park, D.L. 1993. Controlling aflatoxin in food and feed. *Food Technology.* 47(10): 92
- Pitt, J.I. & Hocking, A.D., 2009., *Fungi and Food Spoilage*. New York. Springer.
- Purwadaria, T., Haryati, T., Darma, J. & Munazat, O.I., 1995. In vitro digestibility evaluation of fermented coconut meal using



- Aspergillus niger* NRRL 337. *Bul. Anim. Sci. Special ed.* pp. 375 – 382.
- Rinaldi, R., Wassalwa, M., Hayatillah, R., Amirunnas, A'la, N. & Iswadi., 2016. Mikroorganisme fermentor pada proses pembuatan *pliek u*. *BioWallacea Jurnal Ilmiah Ilmu Biologi.* 2(1): 13-19.
- Rinaldi, R., Samingan, & Iswadi., 2016. Isolasi dan Identifikasi Jamur pada proses pembuatan *pliek u*. *Prosiding Seminar Nasional Biotik 2016.* Banda Aceh : 273-280.
- Ruiqian, L., Qian, Y., Thanaboripat D, Thansukon P., 2004. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *J. Sc.* 4: 1685 – 2044.
- Samosir, A., 1991., Mengamati jenis mikroorganisme yang terdapat pada *Pliek u* yang telah disimpan beberapa bulan pada suhu kamar. *Skripsi.* Padang: Universitas Andalas.
- Samosir, A., 2012., Hubungan perilaku penjamah pembuatan *pliek u* pada industry rumah tangga dengan terdapatnya jamur *Aspergillus niger* di Kecamatan Darul Imarah Aceh Besar. *Tesis.* Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Singh, P. & Gill, P.K., 2006. Production of Inulinases: Recent Advances. *Food Technol Biotechnol.* 44:151-162.
- Sinha, K.K. & Bhatnagar, D., 1998. Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. Marcel Dekker, Inc, New York Basel. 510.
- Smith, J.E. & J.A, Patemen., 1977. *Genetic and Physiology of Aspergillus.* New York: Academic press.
- Vandamme, E.J., 2003. Bioflavours and fragrances via fungi and their enzymes. *Fungal Diversity.* 13:153-166.
- Zul, A., Nurliana, Balqis, U. & Masyitha, D. 2012. Effect of addition *pliek u* in feed on histomorphometric of small intestine villi of broiler. *The Proceeding of the 2<sup>nd</sup> Annual International Conference Syiah Kuala University.* Banda Aceh. 2(1): 110-114.