

Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Bahan Nabati terhadap Perkembangan *Aspergillus flavus* pada Medium PDA dan Biji Kacang Tanah

Sumartini dan Eriyanto Yusnawan

Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan umbi-umbian, PO box 66 Malang

Diterima Juni 2004 disetujui untuk diterbitkan Januari 2005

Abstract

An experiment aimed to obtain botanical fungicide and its concentration to inhibit the growth of *Aspergillus flavus* was done in the mycology laboratory, Indonesia Legume and Tuber Crops Research Institute, Malang on June–August 2003. Kancil and Mahesa varieties of groundnut, *A. flavus* fungus, garlic, onion and ginger were used in this experiment. The effectiveness of botanical fungicide extracts to inhibit *A. flavus* on PDA was done by culturing *A. flavus* (5 mm diameter) in the petridish ($\theta = 9$ cm). This experiment was arranged in a factorial completely randomized design with 5 replications. Factor A was botanical fungicide extracts (garlic, onion, ginger, and sterile water) and factor B was botanical fungicide concentrations (10%, 15%, 20%, dan 25%). The level concentration of botanical fungicide extracts were poured into Petridish containing PDA medium before culturing *A. flavus*. The growth diameter of *A. flavus* was measured as a parameter. A similar experiment for testing the effectiveness of botanical fungicide extracts to inhibit *A. flavus* was also done on groundnut kernel. It was arranged in completely randomized design factorial, 3 replications. Fifty groundnut kernels were dipped on botanical fungicide extract for 3 minutes, placed on plastic tray (30 x 24 x 5 cm³) and layered with wet tissue sterile before used. After botanical fungicide extracts on kernels were air dried, the kernels were inoculated with spore suspension (approximately 10⁴ spore/ml). Disease intensity of *A. flavus* was measured as a parameter. The result showed that the garlic extract treatment was more effective than those of onion extract, ginger extract and without botanical fungicide. The growth rate of colony diameter of *A. flavus* on PDA medium were 0.15 cm, 3.88 cm, 2.59 cm, and 4.30 cm respectively. The used of garlic extract at a concentration 10% on PDA could inhibit colony diameter growth of *A. flavus* by 97% as compared to without botanical fungicide extract. The garlic extract treatment, onion extract, ginger extract and without botanical fungicide extract showed that disease intensity *A. flavus* on groundnut kernels were 13.21%, 22.00%, 20.74%, and 25.18% respectively. An effective concentration to inhibit *A. flavus* infection on groundnut kernels was achieved by using garlic extract 20%. The use of its extract could reduce 73% of disease intensity. This result was different from the treatment on PDA. This was due to the ability of *A. flavus* to degrade cell walls. This process takes time meanwhile much of botanical fungicides extract have evaporated.

Key words : *Arachis hypogea*, *A. flavus*, botanical fungicide

Pendahuluan

Kontaminasi aflatoksin disebabkan oleh adanya infeksi jamur *Aspergillus flavus* pada biji-bijian seperti kacang tanah dan jagung. Biji dapat terinfeksi oleh jamur tersebut semenjak tanaman masih di lapangan sampai dalam proses penyimpanan. Di Indonesia, biji kacang tanah di pasaran 60 – 80% telah terkontaminasi aflatoksin pada tingkat 40 – 4100 µg/kg biji kacang tanah (Machmud, 1989).

Aflatoksin merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan *A. flavus*. Biosintesis aflatoksin telah dipelajari pada biji jagung, dan terbukti bahwa yang menginduksi aktivitas tersebut adalah senyawa hasil pemecahan pati (glukosa, maltosa, dan maltotriosa). Penginduksian dapat mencapai maksimum setelah medium diinkubasi selama empat hari (Woloshuk *et al.*, 1997). Faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan jamur *A. flavus* adalah kondisi kelembaban yang cukup tinggi (90 – 98%) dan temperatur jamur tumbuh baik pada kisaran 17 – 42°C. Kerusakan biji oleh serangga, nematoda atau alat-alat pertanian mempermudah proses infeksi jamur tersebut. Pertumbuhan jamur optimum

pada kelembaban biji sekisar 15 – 30%, sedangkan suhu optimum untuk memproduksi aflatoksin adalah 25 – 35°C (Porter *et al.*, 1984).

Aflatoksin menyebabkan penyakit kanker pada manusia dan hewan ternak, oleh karena itu kontaminasi toksin ini pada produk pertanian harus dikurangi. Salah satu usaha untuk meminimalkan kontaminasi toksin adalah dengan bahan nabati. Ekstrak bawang putih yang mengandung senyawa allicin terbukti efektif sebagai desinfektan ubikayu bentuk gaplek untuk menghindari serangan *A. niger* (Yulineri *et al.*, 1977). Laporan dari India menunjukkan bahwa perkecambahan spora *A. flavus* lebih peka terhadap senyawa penghambat yang terkandung di dalam ekstrak bawang merah (Sharma *et al.*, 1981). Penelitian tentang bahan nabati untuk menghambat perkembangan jamur *A. flavus* di Indonesia masih sedikit sekali, oleh karena itu masih diperlukan cara-cara yang dapat meminimal serangan jamur tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan jenis bahan nabati dan konsentrasi yang dapat digunakan untuk mencegah perkembangan *A. flavus* dalam medium PDA dan biji kacang tanah.

Materi dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi, Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang, pada bulan Juni sampai Agustus 2003. Biji kacang tanah varietas Kancil dan Mahesa diinkubasi selama empat hari di dalam cawan Petri yang diberi alas kertas saring basah. *A. flavus* diperoleh dengan mengisolasi jamur yang tumbuh kemudian memindahkannya ke dalam medium biakan PDA di dalam tabung reaksi. Bahan nabati yang digunakan adalah bawang putih, bawang merah, dan jahe. Sebanyak satu kilogram masing-masing bahan nabati dihaluskan dengan blender dan diencerkan dengan air satu liter. Larutan tersebut dibiarkan selama semalam, keesokan harinya disaring, filtratnya digunakan sebagai bahan induk bahan nabati yang diuji.

Penelitian dilakukan dengan menumbuhkan jamur *A. flavus* pada medium PDA di dalam cawan Petri (d = 9 cm). Rancangannya adalah faktorial dalam acak lengkap, 5 ulangan. Faktor A adalah bahan nabati (bawang putih, bawang merah, jahe, dan air steril), sedangkan faktor B adalah konsentrasi bahan nabati (25, 20, 15, dan 10%). Sebelum jamur *A. flavus* ditumbuhkan pada medium PDA, ke dalam medium diteteskan bahan nabati dengan beberapa macam konsentrasi tersebut. Parameter yang diukur : diameter koloni *A. flavus*.

Biji kacang tanah diperoleh dari bagian Pemuliaan kacang tanah. Biji tersebut sudah disimpan selama satu bulan. Penelitian disusun dengan rancangan acak lengkap faktorial, 3 ulangan. Faktor A adalah bahan nabati (bawang putih, bawang merah, jahe, dan air steril), sedangkan faktor B adalah konsentrasi bahan nabati (25, 20, 15, dan 10%). Sebanyak 50 butir biji kacang tanah (setiap perlakuan) direndam ke dalam bahan nabati selama tiga menit, kemudian diambil dan diletakkan ke dalam *try* plastik (ukuran 30 cm x 24 cm x 5 cm) yang sebelumnya diberi kertas tisu steril dan dibasahi dengan aquades steril. Setelah bahan nabati agak kering (dikering anginkan 30 menit), biji-biji tersebut diinokulasi dengan suspensi spora *A. flavus* (kepadatan 10^4 spora/ml), dengan cara menyemprotkannya, kemudian nampan plastik ditutup dengan lembaran plastik berperekat, dan diinkubasi selama empat hari. Parameter yang diukur adalah intensitas serangan *A. flavus* pada biji kacang tanah.

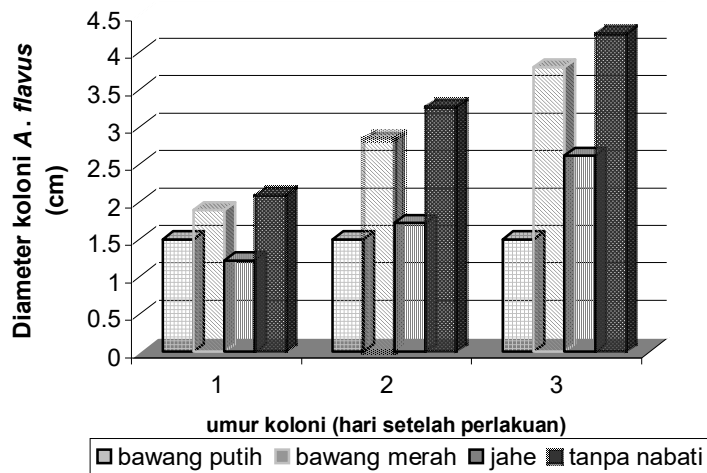
Hasil dan Pembahasan

Pertumbuhan koloni *A. flavus* pada medium PDA setelah perlakuan diilustrasikan pada Gambar 1. Pada Gambar 1 tersebut terlihat bahwa diameter koloni *A. flavus* pada cawan Petri dengan perlakuan air steril semakin hari semakin bertambah, berbeda dengan diameter koloni pada cawan Petri dengan perlakuan bahan nabati. Pemberian bahan nabati ternyata mampu menekan pertumbuhan *A. flavus*, dan yang efektif

menghambat pertumbuhan *A. flavus* berturut-turut adalah bawang putih, jahe, dan bawang merah.

Perlakuan ekstrak kasar bahan nabati bawang merah, bawang putih, dan jahe berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni *A. flavus*. Terdapat interaksi yang nyata antara bahan nabati dan konsentrasi terhadap pertumbuhan diameter *A. flavus* (tabel 1). Tanpa pemberian bahan nabati, diameter koloni *A. flavus* pada umur 4 hari sepanjang 4 cm, dengan pemberian bahan nabati pertumbuhan *A. flavus* akan terhambat, dan penghambatan terbesar terjadi pada perlakuan bawang putih. Bawang putih terbukti paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Tabel 1 tersebut juga menunjukkan bahwa empat level konsentrasi bawang putih yaitu 10, 15, 20, dan 25% menyebabkan penghambatan yang tidak berbeda. Hasil penelitian ini mengisyaratkan bahwa hanya dengan konsentrasi 10% saja bawang putih sudah mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Koloni *A. flavus* pada medium PDA yang mengandung konsentrasi 10% tersebut tidak mengalami pertumbuhan yang ditandai dengan tidak adanya penambahan diameter sama sekali hingga hari terakhir pengamatan sedangkan pertumbuhan koloni *A. flavus* pada medium yang mengandung bawang merah dan jahe masih terus bertambah. Penggunaan bawang putih dengan konsentrasi 10% pada medium PDA mampu menghambat diameter koloni *A. flavus* sebesar 97% dibandingkan dengan tanpa perlakuan.

Penggunaan ekstrak bawang merah dengan konsentrasi 25% di dalam medium PDA menyebabkan pertumbuhan koloni *A. flavus* paling lambat dibandingkan dengan pertumbuhan koloni pada level konsentrasi 20%, 15%, dan 10%. Hal berbeda ditemukan pada medium yang mengandung ekstrak jahe, dengan konsentrasi jahe 10% pertumbuhan koloni *A. flavus* berbeda dengan yang 15%, sedangkan pertumbuhan koloni *A. flavus* pada medium yang mengandung ekstrak jahe dengan konsentrasi 25% dan 20% tidak berbeda sampai dengan hari terakhir pengamatan.



Gambar 1. Pertumbuhan koloni *A. flavus* pada medium PDA yang diberi bahan nabati konsentrasi 25%. Lab. Mikologi, Balitkabi.

Figure 1. The growth of *A. flavus* colony on PDA medium that contains botanical fungicides at rate 25% concentration. Mycology Lab. ILETRI.

Efektivitas bahan nabati terhadap *A. flavus* pada biji kacang tanah baik varietas Mahesa maupun Kancil ternyata tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini kemungkinan disebabkan nutrisi yang terkandung di dalam kedua varietas tersebut yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan *A. flavus* adalah sama. Pada Tabel 2 terlihat bahwa diantara tiga jenis bahan nabati, bawang putih lebih efektif daripada lainnya, dengan intensitas serangan *A. flavus* pada biji kacang tanah paling rendah daripada lainnya, yaitu sebesar 10,31%. Fenomena ini sama dengan hasil penelitian

pada medium PDA. Penggunaan ekstrak bawang putih pada konsentrasi 20% sama dengan 25% masing-masing menunjukkan intensitas serangan sebesar 25,85% dan 22,43%. Penggunaan bawang putih dengan konsentrasi 20% pada biji kacang tanah mampu menghambat intensitas serangan *A. flavus* sebesar 73% dibandingkan dengan tanpa perlakuan.

Tabel 1. Diameter koloni *A. flavus* pada medium PDA, umur 4 hari. Lab. Mikologi. Balitkabi, 2003

Table 1. Diameter of *A. flavus* colony on PDA medium, 4 days old. Mycology Lab. ILETRI. 2003

Bahan nabati	Diameter koloni <i>A. flavus</i> pada beberapa level konsentrasi (cm)			
	25%	20%	15%	10%
Bawang putih	0,15 i	0,15 i	0,15 i	0,15 i
Bawang merah	3,78 c	3,86 de	4,02 c	3,87 d
Jahe	2,38 h	2,44 h	2,68 g	2,85 f
Aquades	4,26 b	4,24 b	4,20 b	4,44 a
Kk (%)	2,04			
BNT 0,05 interaksi	0,089			

Keterangan : angka rata-rata (dari 5 ulangan) yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji BNT pada taraf nyata 5%.

Hasil tersebut berbeda dengan hasil penelitian pada medium PDA. Efektivitas bawang putih pada biji kacang tanah menurun disebabkan oleh komponen penyusunnya tiosulfinat, khususnya sulfida bersifat volatil (O'Gara *et al.*, 2000). Masa inkubasi *A. flavus* pada biji kacang tanah lebih lama daripada medium PDA sehingga sebagian bahan nabati sudah menguap. Medium PDA merupakan medium yang kaya akan nutrisi, *A. flavus* langsung mendapatkan makanan sesaat setelah jamur ditransfer dari tempat lain. Berbeda dengan proses pada biji kacang tanah, jamur harus mendegradasi dinding sel kulit kacang terlebih dahulu untuk pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk membentuk koloni lebih lama, sementara bahan nabati sebagian sudah menguap.

Tabel 2. Intensitas serangan *A. flavus* pada biji kacang tanah. Lab. Mikologi, Balitkabi, 2003.

Table 2. *A. flavus* intensity on groundnut kernel. Mycology Lab. ILETRI. 2003.

Bahan nabati	Intensitas serangan <i>A. flavus</i> (%) pada level konsentrasi			
	25%	20%	15%	10%
1. bawang putih	10,31 de	6,98 e	19,46 bc	16,09 c
2. bawang merah	19,69 bc	25,61 a	21,38 abc	21,33 abc
3. jahe	22,43 ab	25,85 a	18,84 bc	15,82 cd
4. tanpa b. nabati	21,86 ab	26,27 a	26,29 a	26,29 a
Kk (%)	24,00			
BNT 0,05 interaksi	5,61			

Keterangan: data merupakan rata-rata dari 3 ulangan, 50 biji/ulangan, data ditransformasi ke Arc sin $\sqrt{x + 1}$. Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji BNT pada taraf nyata 5%.

Pertumbuhan dan perkembangan *A. flavus* dapat dihambat oleh bawang putih. Mekanisme penghambatan *A. flavus* oleh bawang putih tersebut diduga sama dengan penghambatan yang terjadi pada jamur *Candida albicans*, dimana sintesis lipid terhambat oleh aktivitas allin (Adetumbi *et al.*, 1986).

Bawang putih dalam bentuk ekstrak kasar, minyak, atau tepung mengandung bahan aktif allicin yang merupakan senyawa allyl 2-propene tiosulfinat dan disulfida (Adetumbi *et al.*, 1986; Rees *et al.*, 1993; Ross *et al.*, 2001). Allicin dibentuk secara katalis ketika enzim allinase yang dilepaskan dari sel-sel mesofil bereaksi dengan

substratnya, allin, pada bawang putih dihancurkan (O’Gara *et al.*, 2000). Beberapa bakteri *Bacillus spp.*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, dan *Helicobacter pylori* yang bersifat patogenik pada manusia juga dapat dihambat pertumbuhannya oleh bahan aktif bawang putih (Ross *et al.*, 2001).

Kesimpulan

1. Diantara bahan nabati yang diteliti bawang putih paling efektif menekan pertumbuhan dan perkembangan jamur *A. flavus* sampai 97% pada medium PDA dan 73% pada biji kacang tanah.
2. Konsentrasi bawang putih efektif yang dapat menekan *A. flavus* pada medium PDA adalah 10%, sedangkan pada biji kacang tanah adalah 20%.

Saran

Penelitian tentang formulasi bahan nabati yang efektif dan pada skala laboratorium dan industri masih diperlukan.

Daftar Pustaka

- Adetumbi, M., G. T. Javor, and B.H.S. Lau. 1986. *Allium sativum* (garlic) inhibits lipid synthesis by *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 30: 499-501.
- Machmud, M. 1989. Groundnut aflatoxin problems in Indonesia. P: 215 – 222. *In* Mc Donald, D. and V. K. Mehan (eds.). *Aflatoxin contaminant of groundnut Proceedings of the International Workshop*. ICRISAT Centre, India.
- O’Gara, E. A. , D. J. Hill, and D. J. Maslin. 2000. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituent against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*. 66 (5). p: 2269 – 2273.
- Porter, D. M., Donald H. Smith, and R. Rodriguez-Kabana. 1984. *Compendium of Peanut Diseases*. The American Phytopathological Society. 73 p.
- Rees, L. P., S. F. Minney, N. T. Plummer, J. H. Slater, and D. A. Skyrme. 1993. A quantitative assesment of antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*). *World. J. Microbiol. Biotechnol.* 9: 303 – 307.
- Ross, Z. M., E. A. O’Gara, H. V. Sleightholme, D. J. Hill, and D. J. Maslin. 2001. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. *Applied and Environmental Microbiology*. 67 (1). p: 475 – 480.
- Sharma, A., S. R. Padwal-Desai, G. M. Tewari, and C. Bandyopadhyay. 1981. Factors affecting antifungal activity of onion extractives against aflatoxin-producing fungi. *Journal of Food Science* 46: 665 - 668
- Woloshuk, C. P., J. R. Cavaletto, dan T. E. Cleveland. 1997. Inducer of aflatoxin biosynthesis from colonized maize kernels are generated by an amylase activity from *Aspergillus flavus*. *Phytopathology* 87:164 – 169.
- Yulineri, T., R. Hardiningsih, dan Suciati. 1997. Keberadaan kapang pada gapek: pengaruh terhadap kualitas dan daya simpan. *Berita Biologi* 4 (1) : 27 – 34. Puslitbang Biologi, LIPI.