

PEMERIKSAAN MADU SECARA MIKOLOGIS

KARYA TULIS ILMIAH

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Ahli Madya Analis Kesehatan



Oleh :
Anisia Kinanti Firdaus
32142778J

PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017

LEMBAR PERSETUJUAN

Karya Tulis Ilmiah:

PEMERIKSAAN MADU SECARA MIKOLOGIS

Oleh :
Anisia Kinanti Firdaus
32142778J

Surakarta, 10 Mei 2017

Menyetujui Untuk Sidang KTI
Pembimbing



Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU.
NIS. 01.86.005

LEMBAR PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah :

PEMERIKSAAN MADU SECARA MIKOLOGIS

Oleh :

Anisia Kinanti Firdaus

32142778J

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji

Pada Tanggal 24 Mei 2017

Nama

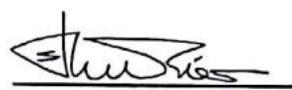
Penguji I : Dra. Nony Puspawati, M.Si.

Tanda Tangan



Penguji II : Guruh Sri Pamungkas, S. Pt., M.Si.

Penguji III : Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU.



Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Setia Budi



Ketua Program Studi
D-III Analis Kesehatan



Dra. Nur Hidayati, M.Pd.
NIS. 01.98.037

MOTTO

“Kawulo mung sadermo obah mosik kersane hyang sukmo”

Tidak ada daya upaya melainkan dengan bantuan Allah. Apabila kita mengerti akan hakikat hamba dalam diri kita, pertolongan Allah adalah sebaik-baikNya. Berusaha, bertawakal, dan serahkan diri pada Allah. Allah akan berikan yang terbaik

“Orang optimis adalah bagian dari jawaban,

dan orang pesimis adalah bagian dari masalah”

PERSEMBAHAN

Karya tulis ini saya persembahkan kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan segala anugerah-Nya.
2. Ayahku tercinta Budi Hartoyo dan Ibuku tercinta Warti terimakasih atas segala kasih sayang, doa, ketulusan, dukungan serta kesabaran yang telah diberikan sehingga dapat menyelesaikan studi sampai saat ini. Adikku Muhammad Faishal yang telah memberikan semangat.
3. Ibu Kartinah Wiryosoendjoyo, SU selaku pembimbing yang telah berkenan memberikan waktu, motivasi, doa dan arahan dengan penuh kesabaran.
4. Rustam Aji S yang telah memberikan semangat dan motivasi setiap waktu.
5. Sahabat-sahabat kost Istiqomah Astrid, Santika, Nurma, Lintang dan Diah yang senantiasa memberikan bantuan, dukungan dan pengalaman yang indah.
6. Teman-teman D-III Analis Kesehatan angkatan 2014 terutama teori 2, terimakasih atas kebersamaan saling membantu dan menyemangati satu sama lain.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“PEMERIKSAAN MADU SECARA MIKOLOGIS”** dengan baik.

Karya Tulis Ilmiah ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Ahli Madya Analis Kesehatan program pendidikan D-III Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta. Dalam penyusunan karya tulis ini menyadari banyak bantuan dari berbagai pihak sehingga dapat menyelesaikan karya tulis ini dengan baik. Berkat bimbingan dan bantuan berbagai pihak maka penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat:

1. Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph. D. Selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Dra. Nur Hidayati, M.Pd selaku Ketua Program Studi DIII Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo. SU selaku Dosen Pembimbing Karya Tulis Ilmiah yang telah berkenan meluangkan waktunya dengan penuh kesabaran, keikhlasan dalam memberikan dorongan, bimbingan, arahan serta nasihat kepada penulis.
4. Bapak/Ibu dosen serta asisten dosen program D-III Analis Kesehatan Universitas Setia Budi telah memberikan bekal ilmu pengetahuan.
5. Ayah dan Ibu tercinta yang selalu memberikan dukungan dan doa.

6. Rekan-rekan KTI atas bantuan dan semangatnya.
7. Teman-teman angkatan 2014 DIII Analis Kesehatan.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih ada kekurangan, maka dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun bagi pembaca pada umumnya dan penulis pada khususnya.

Surakarta, 1 Mei 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Pemeriksaan	3
1.4 Manfaat Pemeriksaan.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Madu	4
2.1.1 Definisi Madu	4
2.1.2 Kandungan Madu	4
2.1.3 Khasiat Madu	6
2.1.4 Manfaat Madu Bagi Kesehatan	7
2.2 Jamur	8
2.2.1 Definisi Jamur	8
2.2.2 Sifat Hidup Jamur	8

2.3	Kapang	9
2.3.1	Morfologi Kapang.....	9
2.3.2	Reproduksi Kapang	9
2.4	Khamir	10
2.4.1	Morfologi Khamir.....	10
2.4.2	Reproduksi Khamir	11
2.5	Media yang Digunakan	11
2.5.1	Medium DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenikol Agar)	11
2.5.2	Medium MEA (Malt Ekstrak Agar)	11
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN		13
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.2	Sampel yang Digunakan	13
3.3	Alat dan Bahan Penelitian	13
3.3.1	Alat	13
3.3.2	Bahan	14
3.4	Variabel Penelitian	14
3.5	Metode	15
3.5.1	Metode Taburan	15
3.6	Prosedur Kerja	15
3.6.1	Persiapan Sampel	15
3.6.2	Pembuatan Blanko	15
3.6.3	Penentuan Angka Jamur	16
3.6.4	Isolasi Khamir pada Medium SGA.....	17

3.6.5 Identifikasi Khamir pada Medium MEA (Malt Ekstrak Agar)	
Secara Goresan	17
3.6 Kriteria Perhitungan Angka Jamur.....	18
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
4.1 Hasil Pengamatan.....	20
4.1.1 Organoleptis	20
4.1.2 Pemeriksaan Angka Jamur	21
4.1.3 Identifikasi Kapang dan Khamir.....	22
4.1.3.1 Sampel A	23
4.1.3.2 Sampel B	27
4.1.3.3 Sampel C	28
4.1.3.4 Sampel D	29
4.2 Pembahasan.....	30
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	P-1
LAMPIRAN	L-1

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Organoleptis pada sampel madu tidak bermerk	20
Tabel 2. Organoleptis pada sampel madu bermerk.....	20
Tabel 3. Data hasil angka jamur pada sampel madu	21
Tabel 4. Hasil identifikasi kapang dan khamir dari sampel A.....	22
Tabel 5. Hasil identifikasi kapang dan khamir dari sampel B.....	22
Tabel 6. Hasil identifikasi kapang dan khamir dari sampel C	22
Tabel 7. Hasil identifikasi kapang dan khamir dari sampel D	22
Tabel 8. Hasil identifikasi khamir pada media MEA.....	23

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 1. Koloni pada Sampel A ₁	23
Gambar 2. Koloni pada Sampel A ₂	24
Gambar 3. Koloni Isolasi khamir Sampel A	24
Gambar 4. <i>Fusarium sporotrichioides</i> pada sampel A	25
Gambar 5. <i>Saccharomyces bailii</i> pada sampel A	25
Gambar 6. <i>Aspergillus tamarii</i> pada sampel A	26
Gambar 7. <i>Cladosporium cladosporioides</i> pada sampel A	27
Gambar 8. Koloni pada Sampel B	27
Gambar 9. <i>Fusarium sporotrichioides</i> pada sampel B	28
Gambar 10. Koloni pada Sampel C	28
Gambar 11. <i>Penicillium citrinum</i> pada sampel C	29
Gambar 12. Koloni pada Sampel D	29
Gambar 13. <i>Fusarium sporotrichioides</i> pada sampel D	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar sampel	L- 1
Lampiran 2. Pengenceran 10^{-1}	L- 1
Lampiran 3. Blanko	L- 2
Lampiran 4. Koloni pada cawan petri media DRBC	L- 3
Lampiran 5. Koloni khamir pada media MEA	L- 5
Lampiran 6. Kunci determinasi spesies Aspergillus	L- 6
Lampiran 7. Kunci determinasi spesies Cladosporium	L- 7
Lampiran 8. Kunci determinasi spesies Fusarium	L- 8
Lampiran 9. Kunci determinasi spesies Penicillium	L- 9
Lampiran 10. Kunci determinasi spesies Saccharomyces	L-10
Lampiran 11. Komposisi dan Prosedur Pembuatan DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol)	L-11
Lampiran 12. Komposisi dan Prosedur Pembuatan LCB (Lactophenol Cotton Blue)	L-12
Lampiran 13. Komposisi dan Prosedur Pembuatan SGA (Sabouraud Glukosa Agar)	L-13
Lampiran 14. Komposisi dan Prosedur Pembuatan MEA (Malt Ekstrak Agar)	L-14
Lampiran 15. Badan Pengawas Obat dan Makanan	L- 15

INTISARI

Firdaus, Anisia Kinanti.2017.*Pemeriksaan Madu Secara Mikologis.* Program Studi D-III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi. Pembimbing : Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU.

Madu adalah cairan alami yang mempunyai rasa manis dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (flora nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra flora nektar) atau sekresi serangga. Kandungan dalam madu dipengaruhi oleh faktor internal dan faktor eksternal. Khasiat madu sudah sejak lama dikenal diantaranya dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit hingga dimanfaatkan untuk menjaga kencantikan terutama kecantikan kulit. Proses pemanenan hingga pengemasan produk madu dapat terkontaminasi oleh mikroba. Permasalahan yang terjadi dapat berpengaruh terhadap kesehatan konsumen sehingga perlu dilakukan pemeriksaan madu secara mikologis. Beberapa spesies jamur dapat menghasilkan toksin yang berbahaya bagi manusia maupun hewan.

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui angka jamur dan jenis jamur yang terdapat pada madu. Media Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol digunakan untuk menghitung angka jamur dan identifikasi kapang. Media Malt Ekstrak Agar digunakan untuk mengetahui jenis khamir. Metode yang digunakan adalah metode taburan.

Hasil pemeriksaan dapat disimpulkan bahwa ke empat sampel madu tersebut semuanya tidak memenuhi syarat mutu secara mikologis. Jenis jamur yang ditemukan adalah *Fusarium sporotrichioides*, *Saccharomyces bailii*, *Aspergillus tamarii*, *Cladosporium cladosporioides*, dan *Penicillium citrinum*.

Kata kunci : Madu, mikologis, angka jamur, jenis jamur.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Madu merupakan bahan makanan yang sangat dikenal manfaatnya sejak ribuan tahun lalu. Madu telah dikenal masyarakat karena beragam khasiatnya. Madu memiliki banyak manfaat untuk menjaga kesehatan, bahkan menyembuhkan berbagai macam penyakit juga bermanfaat untuk menjaga kecantikan, terutama kecantikan kulit (Yuliarti, 2015).

Sekarang ini banyak beredar madu yang sudah siap dikonsumsi dengan harga yang relatif. Madu dikemas dengan berbagai kemasan plastik maupun botol serta varian rasa. Madu dengan mudah didapatkan mulai dari pasar tradisional hingga supermarket. Madu dapat dikonsumsi masyarakat mulai dari anak-anak hingga usia lanjut. Banyak pengusaha kecil hingga besar memproduksi madu yang siap untuk dinikmati, sehingga dapat memudahkan masyarakat tanpa harus mengambilnya dari sarang lebah madu.

Definisi madu menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3545-2004, adalah cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (flora nektar) atau bagian dari tanaman (ekstra flora nektar) atau eksresi serangga.

Kandungan dalam madu dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Madu mengandung protein, karbohidrat,

asam amino, vitamin, mineral dan zat-zat lain yang bermanfaat bagi tubuh manusia. Madu dapat digunakan sebagai bahan tambahan dalam industri pangan, obat-obatan dan kecantikan. Enzim yang terdapat dalam madu adalah enzim amilase, glukosa oksidase, katalase, invertase, diastase, peroksidase, pospatase asam dan enzim-enzim proteolitik. Semua enzim berasal dari nektar, serbuk sari, dan sekresi kelenjar saliva lebah (Wibowo dkk, 2016).

Proses pemanenan hingga pengemasan produk madu dapat terkontaminasi oleh mikroba. Beberapa jenis jamur dapat menghasilkan toksin yang berbahaya bagi manusia maupun hewan. Berdasarkan peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan tahun 2009, madu mempunyai batas maksimum cemaran mikroba kapang dan khamir $<1 \times 10^1$ koloni/g serta kandungan maksimal air pada madu 22% (Badan Standarisasi Nasional, 2009). Kadar air yang lebih dari 20% akan mudah mengalami fermentasi. Cemaran kapang khamir dan kadar air yang melebihi batas tersebut dapat mempengaruhi mutu dan kualitas suatu produk makanan atau minuman. Permasalahan yang timbul dapat berpengaruh terhadap kesehatan konsumen, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan madu secara mikologis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka diperoleh rumusan masalah :

- a. Apakah angka jamur dalam madu memenuhi syarat mutu secara mikologis menurut BPOM 2009 ?

- b. Apa jenis jamur yang terdapat pada madu tersebut ?

1.3 Tujuan Pemeriksaan

- a. Untuk mengetahui angka jamur dalam madu sudah memenuhi atau tidak memenuhi syarat mutu secara mikologis.
- b. Untuk mengetahui jenis jamur yang terdapat pada madu tersebut sehingga dapat membahayakan atau tidak.

1.4 Manfaat Pemeriksaan

Dengan melakukan pemeriksaan dapat memberikan informasi kepada seluruh masyarakat pada umumnya mengenai kualitas penggunaan madu yang sangat bermanfaat ditinjau dari aspek mikologis serta dapat membahayakan atau tidak.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Madu

2.1.1 Definisi Madu

Madu adalah cairan yang dihasilkan dari sari bunga tanaman maupun bahan lain dalam tanaman. Proses terjadinya madu yaitu mulai mula lebah pekerja mencari nektar sebagai makanan utamanya. Nektar bunga akan dihisap oleh lebah madu. Saat sampai disarang, nektar bunga akan dimuntahkan kembali oleh lebah madu dan disimpan dalam lubang sarang (Yuliarti, 2015).

Pada proses pemasakan nektar menjadi madu, lebah menambahkan enzim kedalam madu. Enzim invertase mengonversi sukrosa pada nektar menjadi glukosa dan fruktosa. Enzim glukosa oksidase mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida (Saputra, 2012).

2.1.2 Kandungan Madu

Komposisi madu dipengaruhi dua faktor, yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal diantaranya jenis nektar bunga yang dihasilkan dan berhasil dikumpulkan oleh lebah serta faktor eksternal seperti musim, kondisi tanah, proses pengolahan dan penyimpanan (Evahelda dkk, 2015). Nektar adalah suatu senyawa kompleks yang dihasilkan oleh kelenjar “necterifier” tanaman dalam bentuk larutan gula

yang bervariasi. Komponen utama dari nektar adalah sukrosa, fruktosa, dan glukosa (Putri ,2014).

Madu memiliki komposisi yaitu air (17,2%), gula (81,3%), dan sisanya merupakan asam-asam amino, vitamin, mineral (besi, fosfor, magnesium, aluminium, natrium, kalsium, dan kalium), enzim, hormon, zat bakterisida, dan zat aromatik. Gula dalam madu memiliki komposisi yaitu fruktosa (38,19%), glukosa (31,28%), sukrosa (5%), maltosa dan disakarida lain (6,83%). Madu memiliki kandungan vitamin C (asam askorbat), vitamin B₆ (piridoksin), B₁ (thiamin) ,B₂ (riboflavin) ,niasin, asam pantoneat, biotin, asam folat, dan vitamin K.

Madu juga memiliki enzim yang terdapat didalamnya seperti enzim peroksidase, lipase, diastase, invertase, dan glukosa oksidase. Enzim yang terdapat pada madu memiliki keuntungan untuk kesehatan, tetapi dalam proses pemanasan dan penyimpanan yang terlalu lama dapat mengurangi aktivitas enzim (Sahputra, 2014). Beberapa parameter yang dapat dijadikan penentu kualitas madu berdasarkan SNI 01-3545-2004, diantaranya adalah enzim diastase, gula pereduksi dan kadar air. Enzim diastase merupakan enzim yang ditambahkan lebah pada saat pematangan madu, sehingga keberadaan enzim diastase dapat dijadikan indikator untuk melihat kemurnian madu (Evahelda dkk, 2015).

2.1.3 Khasiat Madu

Madu memiliki khasiat yang sangat banyak, hal ini disebabkan karena adanya kadar gula didalam madu yang cukup tinggi, tingginya kadar gula dalam madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri, karena bakteri tidak mampu berkembang biak dalam kondisi pekat (kadar gula tinggi). Madu akan menghasilkan senyawa hidrogen peroksida yang bersifat sebagai desinfektan, desinfektan berfungsi untuk membunuh bibit penyakit, misalnya bakteri atau virus. Madu memiliki tingkat keasaman 3,65 di dalam pH tersebut bakteri tidak dapat hidup dan akan mati. Madu mengandung bahan-bahan antibakteri, didalam madu terdapat senyawa organik yang sifatnya antibakteri, yaitu flavonoid, polyphenol dan glikosida. Zat-zat tersebut dapat mencegah terjadinya sejumlah penyakit, seperti radang pada usus, maag, dan tukak lambung. Di dalam saluran pencernaan, madu memiliki fungsi melindungi kolon dari luka sehingga tidak terjadi infeksi, madu juga dapat melemahkan bakteri atau menghentikan penyebaran bakteri. Kandungan gizi dalam madu cukup beragam yaitu karbohidrat, vitamin dan mineral (Yuliarti, 2015).

Madu dapat digunakan sebagai pemanis yang baik pengganti gula karena lebih menyehatkan dibanding gula. Madu mengandung berbagai vitamin dan mineral. Madu merupakan sumber antioksidan karena dapat menghilangkan radikal bebas dalam tubuh, memberi manfaat kecantikan serta kesehatan kulit. Kadar protein dalam madu relatif kecil yaitu 2,6 persen. Kandungan asam amino pada madu mampu memenuhi

kebutuhan protein balita. Madu mengandung zat antibiotik yang dapat menghambat infeksi penyakit dengan mengonsumsi secara teratur (Sakri, 2015).

Madu yang mengandung khamir akan memfermentasi gula dan menghasilkan buih. Madu yang berbuih akan menghasilkan gas sehingga dapat menekan wadah atau botol madu, cepat berubah warna dan mudah berubah aroma (Putri, 2014).

2.1.4 Manfaat Madu Bagi Kesehatan

Madu mengandung zat antibakteri sehingga baik untuk mengobati luka luar tubuh dan penyakit infeksi. Madu dapat dibuat untuk masker, sabun, sampo, dan bahan untuk luluran. Pada bidang kosmetik, madu digunakan sebagai campuran lipstik, pelembab, dan antiseptik kulit. Salah satu sifat madu yaitu bersifat mengawetkan. Madu mempunyai sifat osmolalitas yang tinggi sehingga bakteri sulit untuk hidup. Sifat osmolalitas hanya terdapat pada madu murni, pada madu campuran bakteri masih bisa hidup. Madu mempunyai sifat higroskopis yaitu mampu menarik air dari lingkungan sekitar. Madu dapat dipakai untuk menyembuhkan luka sayatan, menyembuhkan luka bakar, menyembuhkan belekan, memperbaiki kekurangan gizi, menghilangkan rasa sakit, pengganti glukosa dalam oralit, mengatasi gangguan saluran pencernaan, memperbaiki kondisi kesehatan penderita AIDS, mengobati hemoroid, mengobati kanker, sebagai antioksidan, mengatasi perdarahan, mengatasi gangguan hati, mengurangi efek radioterapi pada kanker, sebagai antibiotik oles, meredakan gangguan pencernaan,

mengobati jerawat, mengurangi gatal, meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah kanker dan penyakit jantung, meningkatkan sistem imun, meningkatkan stamina serta mengobati batuk dan radang tenggorokan (Yuliarti, 2015).

2.2 Jamur

2.2.1 Definisi Jamur

Jamur adalah organisme hidup eukariotik yang tidak mempunyai klorofil, mempunyai dinding, bersifat heterotrof, menyerap nutrien melalui dinding selnya, menghasilkan spora atau konidia, melakukan reproduksi seksual dan atau aseksual. Jamur tidak mempunyai akar, batang dan daun seperti tumbuhan. Jamur biasanya mempunyai struktur somatik seperti benang-benang bercabang ataupun berupa sel tunggal. Struktur somatik ini mirip satu sama lainnya, sedangkan struktur reproduktif mempunyai bermacam-macam bentuk yang merupakan dasar untuk klasifikasi jamur (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006).

2.2.2 Sifat Hidup Jamur

Jamur dapat bersifat saprofit, parasit dan simbion. Jamur bersifat saprofit mampu hidup dari benda-benda atau bahan-bahan organik mati. Jamur bersifat parasit mampu menyerap bahan organik dari mikroorganisme yang masih hidup. Jamur bersifat simbion mampu bersimbiosis dengan organisme lain. Jamur dapat menyebabkan kerusakan pada produk yang disebabkan oleh kerusakan fisik, mekanis, kimia dan mikrobiologis. Kapang dalam pertumbuhannya dapat

memproduksi zat kimia yang bersifat racun yang disebut mikotoksin (Teurupun dkk, 2013).

Kapang dan khamir merupakan kelompok mikroorganisme yang termasuk filum jamur. Fungsi lain dari jamur adalah menghasilkan berbagai jenis enzim, vitamin, hormon tumbuh, asam-asam organik dan antibiotik. Jamur dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit yang membahayakan bagi organisme lain terutama manusia (Noverita, 2009).

2.3 Kapang

2.3.1 Morfologi kapang

Kapang merupakan jamur multiseluler yang mempunyai filamen. Filamen merupakan ciri khas morfologi kapang yang membedakan dengan khamir. Penampakan filamen pada koloni kapang berserbut seperti kapas. Pertumbuhannya mula-mula berwarna putih, tetapi jika spora telah timbul akan membentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang. Sifat-sifat morfologi kapang baik penampakan makroskopik maupun mikroskopik digunakan dalam identifikasi dan klasifikasi kapang (Sumarmianti, 2008).

2.3.2 Reproduksi kapang

Kapang melakukan reproduksi dengan cara membelah diri atau aseksual, memiliki kantong spora berwarna-warni sehingga kapang dapat dikenali dari warnanya. Selain dengan cara membelah diri, kapang juga dapat melakukan reproduksi seksual yaitu melalui pembentukan askospora atau zigospora. Kapang memerlukan faktor

untuk pertumbuhannya, memerlukan lebih sedikit air dibandingkan dengan bakteri serta tumbuh optimal pada kisaran suhu 25-30°C (Thearesti, 2015). Jenis kapang tertentu dapat menghasilkan toksin yaitu mikotoksin. Mikotoksin adalah metabolit sekunder dari kapang yang dapat menyebabkan efek toksik pada manusia dan hewan (Dewi, 2016).

2.4 Khamir

2.4.1 Morfologi Khamir

Khamir atau yeast adalah kelompok jamur uniseluler yang bersifat mikroskopik. Ada beberapa genus khamir yang dapat membentuk miselium dengan percabangan. Khamir dapat bersifat patogen pada manusia dan binatang. Khamir tersebar di alam, tetapi tidak seluas daerah penyebaran bakteri. Pada umumnya khamir mempunyai ukuran sel-sel yang lebih besar dibandingkan bakteri. Ukuran khamir sekitar 1-5 mikron lebar dan panjangnya sekitar 5-30 mikron (Dewi, 2016).

Koloni khamir tampak bulatan kental dengan permukaan yang umumnya licin atau redup atau kasar. Beberapa bentuk khamir yaitu bulat, elips atau bulat telur dan batang. Khamir bersifat fakultatif artinya khamir dapat hidup dalam keadaan aerob maupun anaerob (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006).

2.4.2 Reproduksi khamir

Kebanyakan khamir berkembang biak dengan tunas. Khamir memiliki dua fase dalam siklus hidupnya, bergantung kepada keadaan lingkungan yaitu fase hifa (membentuk miselium) dan fase khamir (membentuk sel tunggal). Khamir dapat membentuk hifa palsu yang tumbuh menjadi miselium palsu dan membentuk miselium sejati. Pseudomiselium adalah sel-sel tunas khamir yang memanjang dan tidak melepaskan diri dari sel induknya sehingga saling berhubungan membentuk rantai (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006).

2.5 Media yang digunakan

2.5.1 Medium DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar)

Medium DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol) adalah media yang paling cocok untuk menghitung jumlah kapang atau khamir. DRBC mengandung rose bengal dan dichloran yang dapat menekan pertumbuhan kapang sehingga dapat membatasi penyebaran koloni tanpa mempengaruhi perkembahan dari spora secara berlebihan. Koloni yang tumbuh dapat dihitung dengan lebih akurat (Pitt dan Hocking, 1985).

2.5.2 Medium MEA (Malt Ekstrak Agar)

Malt Ekstrak Agar (MEA) adalah media padat yang paling disarankan untuk mendeteksi kapang dan khamir dalam produk susu maupun bahan makanan yang lainnya. Malt Ekstrak Agar mengandung maltosa tinggi sehingga sangat sesuai untuk pertumbuhan kapang dan khamir. Dekstrin dan gliserol adalah sumber karbon. Gelatin pepton

merupakan sumber nitrogen, pH asam pada medium sangat optimum untuk pertumbuhan kapang dan khamir juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, sterilisasi dengan waktu yang lebih lama akan membuat media menjadi lebih lembut (Pitt dan Hocking, 2009).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan pengujian dilakukan di Laboratorium Mikologi Universitas Setia Budi Surakarta, dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2017.

3.2 Sampel yang Digunakan

Sampel yang diuji adalah 4 sampel yaitu 2 sampel madu tidak bermerk yang dijual di Pasar Tradisional Surakarta dan 2 sampel madu bermerk yang dijual di Swalayan Surakarta dengan berbagai variasi harga.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

1. Enkas
2. Timbangan elektrik
3. Autoclave
4. Oven
5. Tabung Reaksi
6. Rak tabung reaksi
7. Erlenmeyer 250 ml
8. Lampu Spiritus

9. Cawan Petri
10. Pipet ukur 10 ml dan 1 ml
11. Beaker glass
12. Mikroskop
13. Syringe
14. Jarum ose
15. Batang pengaduk

3.3.2 Bahan

1. Sampel madu tidak bermerk A,B dan bermerk C,D
2. Medium Dichloran Rose Bengal Choramphenicol Agar (DRBC)
3. Medium Sabouraud Glukosa Agar (SGA)
4. Medium Malt Extract Agar (MEA)
5. Lactofenol Cotton Blue
6. Larutan CH_3COOH pekat
7. Larutan NaCl
8. Glukosa agar
9. Aquadest steril
10. Alkohol 70%

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel madu, sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah angka jamur dan jenis jamur dalam madu.

3.5 Metode

3.5.1 Metode Taburan

Prinsip dari metode taburan adalah jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada media agar, maka sel mikroba akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dihitung dengan mata telanjang tanpa harus menggunakan mikroskop.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Persiapan sampel

Sampel tidak bermerk di beri label A,B dan yang bermerk diberi label C,D.

3.6.2 Pembuatan Blanko

a. Blanko entkas (lingkungan kerja)

Disiapkan lempeng media DRBC pada cawan steril, lalu lempeng tersebut dibuka selama bekerja dalam ruang entkas. Setelah selesai tutup cawan petri dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5-7 hari.

b. Blanko medium

Disiapkan medium DRBC, dimasukkan kedalam cawan petri steril lalu dibiarkan memadat kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5-7 hari.

c. Blanko Pengencer

Dipipet 1 ml aquadest steril, dimasukkan dalam cawan petri steril dan campur medium DRBC lalu dibiarkan memadat kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5-7 hari.

3.6.3 Penentuan Angka Jamur

- a. Disiapkan 4 erlenmeyer yang berisi 90 ml aquadest steril. Sampel yang tidak bermerk dengan label A,B dipipet 10 ml dimasukkan kedalam masing-masing erlenmeyer yang berisi 90 ml aquadest steril. Sampel yang bermerk dengan label C,D juga dipipet 10 ml dimasukkan dalam masing-masing erlenmeyer yang berisi 90 ml aquadest steril. Dari persiapan tersebut sudah didapatkan pengenceran 10^{-1} .
- b. Dipipet 1 ml suspensi dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara aseptis.
- c. Ditambah media DRBC yang telah dicairkan kemudian dihomogenkan agar suspensi tersebar merata dan biarkan sampai padat.
- d. Diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu kamar.
- e. Perhitungan koloni jamur yang tumbuh dilakukan untuk mengetahui angka jamur.

3.6.4 Isolasi Khamir pada Medium SGA

- a. Diambil 1 ose biakan khamir pada medium DRBC yang akan di isolasi ke dalam media SGA miring secara aseptis.
- b. Inkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari.

3.6.5 Identifikasi Khamir pada Medium MEA (Malt Ekstrak Agar) Secara Goresan

- a. Media MEA digunakan untuk mengetahui morfologi koloni khamir, diinkubasi pada suhu kamar.
- b. Media MEA + asam asetat (CH_3COOH) pekat 0,5 % digunakan untuk mengetahui khamir yang tahan pada pengawet, diinkubasi pada suhu kamar.
- c. Media MEA pada suhu 37°C digunakan untuk mengetahui pertumbuhan khamir yang tahan pada suhu tinggi.
- d. Media MEA + glukosa 50% digunakan untuk mengetahui pertumbuhan khamir pada aktifitas air yang rendah dengan adanya kadar karbohidrat tinggi, diinkubasi pada suhu kamar.
- e. Media MEA + NaCl 10% + Glukosa 12% digunakan untuk mengetahui pertumbuhan khamir pada aktifitas air yang rendah dengan adanya NaCl, diinkubasi pada suhu kamar.

3.7 Kriteria Perhitungan Angka Jamur

Hitung jumlah koloni jamur yang tumbuh pada setiap cawan petri. Petri dari setiap pengenceran, tentukan angka jamur tiap gram atau ml sampel. Kriteria perhitungan angka jamur :

- a. Bila jumlah koloni antara 40-60 dari cawan petri pada satu pengenceran yang sama, maka jumlah koloni dari kedua cawan petri dihitung, dirata-rata dan dikalikan dengan faktor pengenceran.
- b. Bila jumlah koloni antara 40-60 dari cawan petri pada dua tingkat pengenceran berurutan, maka dihitung jumlah koloni pada tiap pengenceran, kemudian dibandingkan, bila hasilnya lebih besar dari 2 dipakai pengenceran yang lebih rendah, bila lebih kecil dari 2 dipakai angka rata rata.
- c. Hasil tersebut diatas digunakan sebagai angka jamur per gram atau per ml sampel .

Untuk beberapa kemungkinan lain yang berbeda dari hal tersebut diatas, maka dapat diikuti petunjuk sebagai berikut:

- a. Bila hanya salah satu diantara kedua cawan petri dari pengenceran yang sama menunjukkan jumlah antara 40-60 koloni, maka dihitung jumlah koloni dari kedua cawan dan dikalikan dengan faktor pengenceran.
- b. Bila pada tingkat pengenceran yang lebih tinggi didapat jumlah koloni lebih besar dua kali jumlah koloni pada pengenceran dibawahnya, maka dipilih tingkat pengenceran terendah. Misalnya pada pengenceran 10^{-2} didapatkan 60 koloni dan pada pengenceran 10^{-3}

didapatkan 20 koloni, maka dipilih jumlah koloni pada tingkat pengenceran 10^{-2} yaitu 60 koloni.

- c. Bila dari seluruh cawan petri tidak ada satupun yang menunjukkan jumlah koloni 40-60 koloni, maka dicatat angka sebenarnya dari tingkat pengenceran terendah dan dihitung sebagai angka jamur perkiraan.
- d. Bila tidak ada pertumbuhan pada semua cawan petri, dan bukan disebabkan karena faktor inhibitor, maka angka jamur dilaporkan kurang dari 1 dikalikan faktor pengenceran terendah.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pengamatan

4.1.1 Organoleptis :

Tabel 1. Organoleptis pada sampel madu tidak bermerk

Organoleptis	SAMPEL A	SAMPEL B
Warna	Coklat tua	Coklat tua
Kekentalan	Kental	Agak kental
Rasa	Manis	Manis
Bau	Khas madu	Gula pasir

Tabel 2. Organoleptis pada sampel madu bermerk

Organoleptis	SAMPEL C	SAMPEL D
Warna	Coklat muda	Coklat muda
Kekentalan	Agak kental	Agak kental
Rasa	Sedikit Manis	Manis
Bau	Khas madu	Khas madu

4.1.2 Pemeriksaan Angka Jamur

Pemeriksaan angka jamur terhadap 4 sampel madu dengan 2 sampel tidak bermerk pada sampel A, B dan 2 sampel bermerk pada sampel C, D serta variasi harga di dapatkan hasil :

Tabel 3. Data hasil angka jamur pada sampel madu

Sampel	pengenceran	Cawan petri 1	Cawan petri 2	Rata-rata
A	10^{-1}	>60	>60	>60
B	10^{-1}	0	6	3
C	10^{-1}	0	2	1
D	10^{-1}	0	3	1,5

Perhitungan

- Angka jamur pada sampel A adalah $>60 \times 10^1$ koloni / gram
- Angka jamur pada sampel B adalah 3×10^1 koloni / gram
- Angka jamur pada sampel C adalah 1×10^1 koloni / gram
- Angka jamur pada sampel D adalah $1,5 \times 10^1$ koloni / gram

Syarat angka dan khamir standartnya adalah $<1 \times 10^1$ koloni/gram. Hasil pemeriksaan terhadap 2 sampel madu bermerk dan 2 sampel tidak bermerk didapatkan hasil bahwa keempat sampel tersebut tidak memenuhi syarat angka kapang khamir.

4.1.3 Identifikasi Kapang dan khamir

Tabel 4. Hasil identifikasi kapang dan khamir dari sampel A

Sampel	Jamur
A	<i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Saccharomyces bailii</i> <i>Aspergillus tamarii</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>

Tabel 5. Hasil identifikasi kapang dan khamir sampel B

Sampel	Jamur
B	<i>Fusarium sporotrichioides</i>

Tabel 6. Hasil identifikasi kapang dan khamir sampel C

Sampel	Jamur
C	<i>Penicillium citrinum</i>

Tabel 7. Hasil identifikasi kapang dan khamir sampel D

Sampel	Jamur
D	<i>Fusarium sporotrichioides</i>

Tabel 8. Hasil identifikasi khamir pada media Malt Ekstrak Agar (MEA)

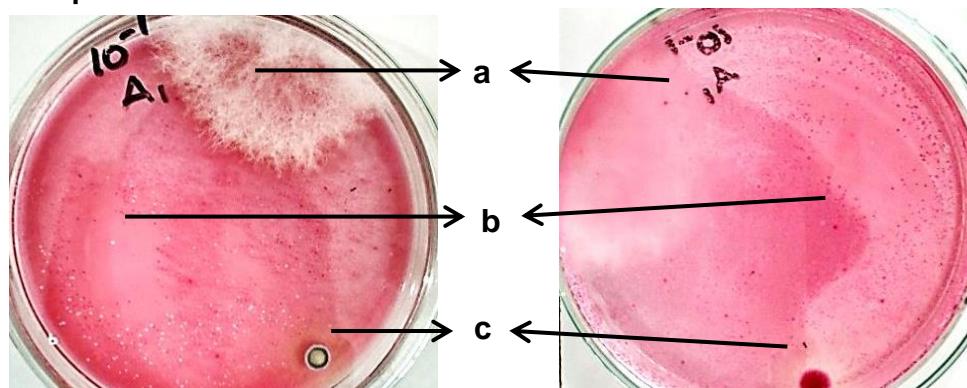
Spesies jamur	<i>Saccharomyces bailii</i>
Ukuran koloni	2-3 mm
Warna	Putih
MEA diinkubasi pada suhu ruang	-
MEA diinkubasi pada suhu 37°C	-
MEA + asam asetat pekat 0,5%	+
MEA + glukosa 50%	+
MEA + NaCl 10% + glukosa 12%	-

Keterangan :

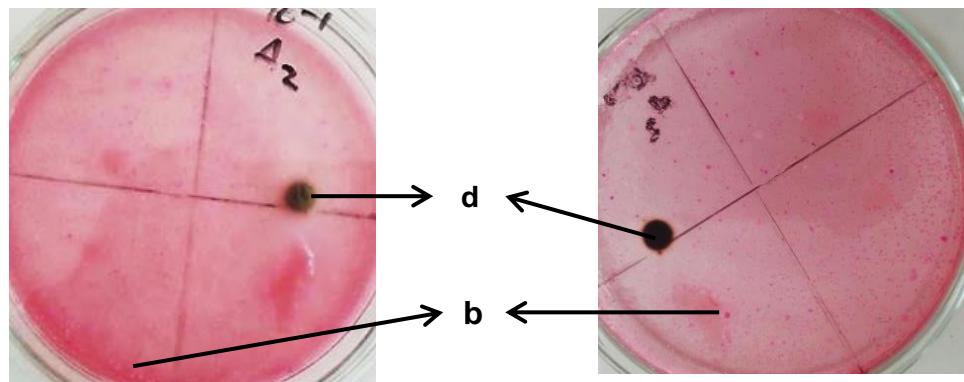
(-) : tidak ada pertumbuhan koloni khamir

(+) : ada pertumbuhan koloni khamir

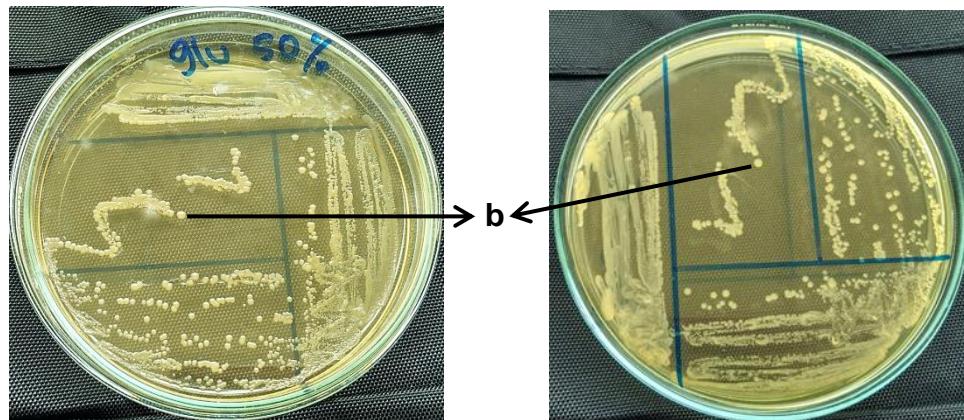
4.1.3.1 Sampel A



Gambar 1. Koloni sampel A₁ pada medium DRBC permukaan atas (kiri), permukaan bawah (kanan), *Fusarium sporotrichioides* (a), *Saccharomyces bailii* (b), dan *Aspergillus tamarii* (c)



Gambar 2. Koloni sampel A₂ pada medium DRBC permukaan atas (kiri), pada permukaan bawah (kanan), *Saccharomyces bailii* (b), dan *Cladosporium cladosporioides* (d)

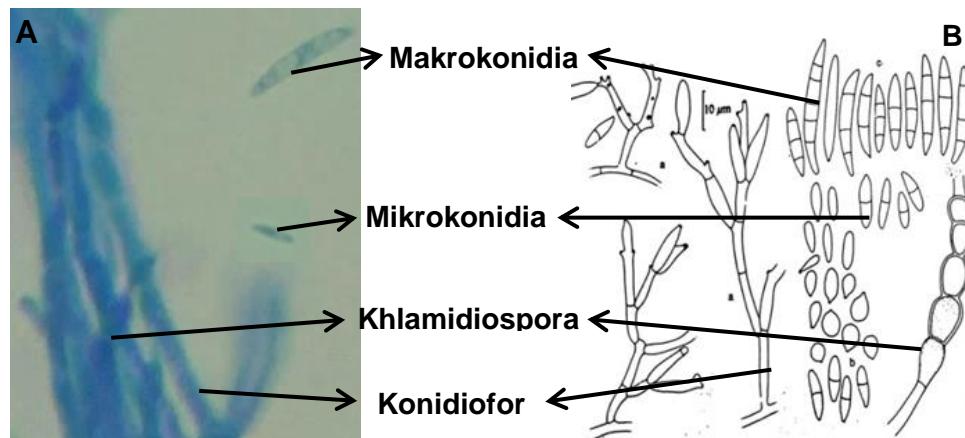


Gambar 3. Koloni isolasi khamir dari sampel A pada medium MEA permukaan atas (kiri), permukaan bawah (kanan), *Saccharomyces bailii* (b)

Koloni a : *Fusarium sporotrichioides* dengan ciri-ciri koloni seperti kapas, pada permukaan atas berwarna putih, pada permukaan bawah berwarna putih.

- Determinasi berdasarkan buku Introduction to Food-Borne Fungi (Samson dkk, 1984:79) : 2b- 3a (*Fusarium sporotrichioides*)

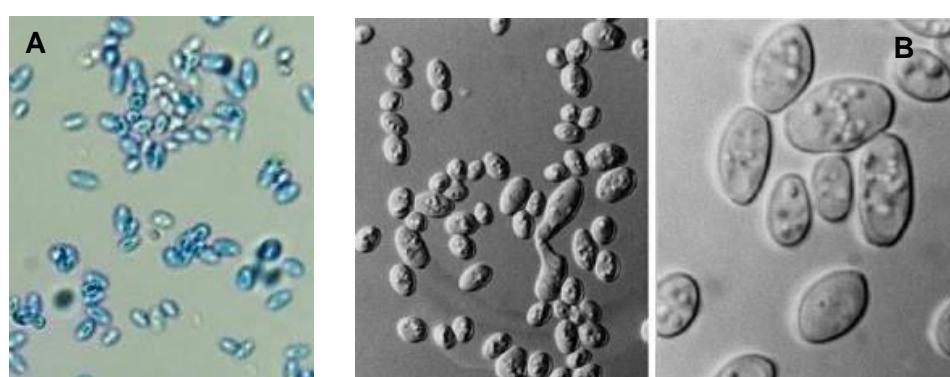
Pengamatan mikroskopik :



Gambar 4. *Fusarium sporotrichioides* hasil isolasi dari madu pada sampel A dengan perbesaran 40 x 10 (gambar A)
Sumber : Gandjar dkk, 2000:69 (gambar B)

Koloni b : *Saccharomyces bailii* dengan ciri-ciri koloni kecil-kecil berlendir, pada permukaan atas berwarna putih dan berlendir, pada permukaan bawah berwarna putih.

- Determinasi berdasarkan buku Fungi and Food Spoilage (Pitt dan Hocking, 1985:341) : 5a - 5b - 6a (*Saccharomyces bailii*)
- Pengamatan mikroskopik :

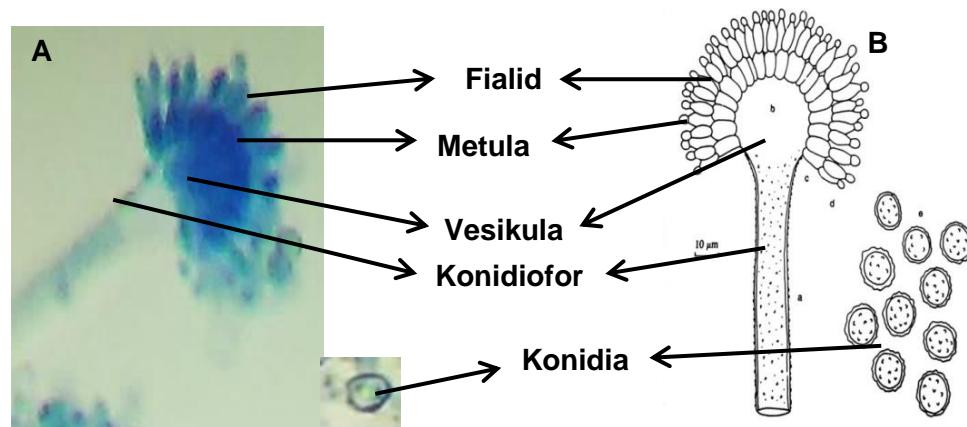


Gambar 5. *Saccharomyces bailii* hasil isolasi dari madu sampel A pada media MEA dengan perbesaran 40 x 10 (gambar A)
Sumber : Pitt dan Hocking, 2009:377 (gambar B)

Koloni c : *Aspergillus tamarii* dengan ciri-ciri koloni pada permukaan atas coklat kekuningan, pada permukaan bawah abu-abu kecoklatan dan berbentuk pasir

- Determinasi berdasarkan buku Introduction to Food-Borne Fungi (Samson dkk, 1984:52) : 4b - 5a. (*Aspergillus ochraceus*) 5b. (*Aspergillus tamarii*)

Pengamatan mikroskopik :



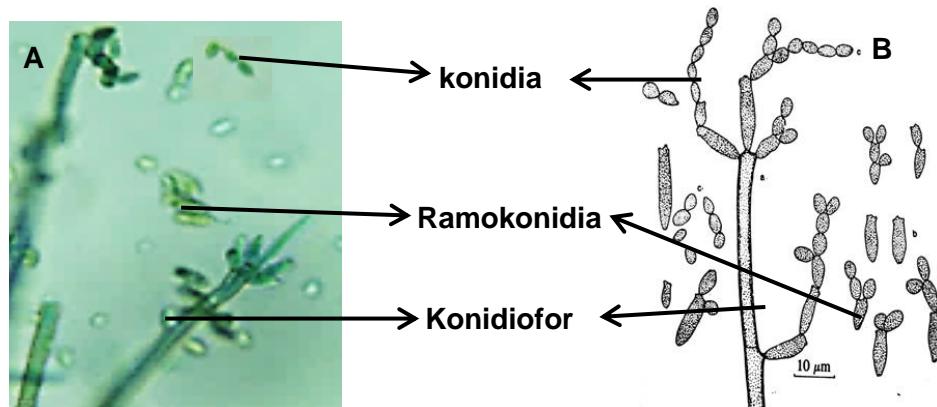
Gambar 8. *Aspergillus tamarii* hasil isolasi dari madu sampel A dengan perbesaran 40 x 10 (gambar A)

Sumber : Gandjar dkk, 2000:33 (gambar B)

Koloni d : *Cladosporium cladosporioides* dengan ciri-ciri koloni pada permukaan atas hijau tua kecoklatan, pada permukaan bawah hitam dan berbentuk bludru.

- Determinasi berdasarkan buku Introduction to Food-Borne Fungi (Samson dkk, 1984:175) : 1a - 2a - 2b (*Cladosporium cladosporioides*)

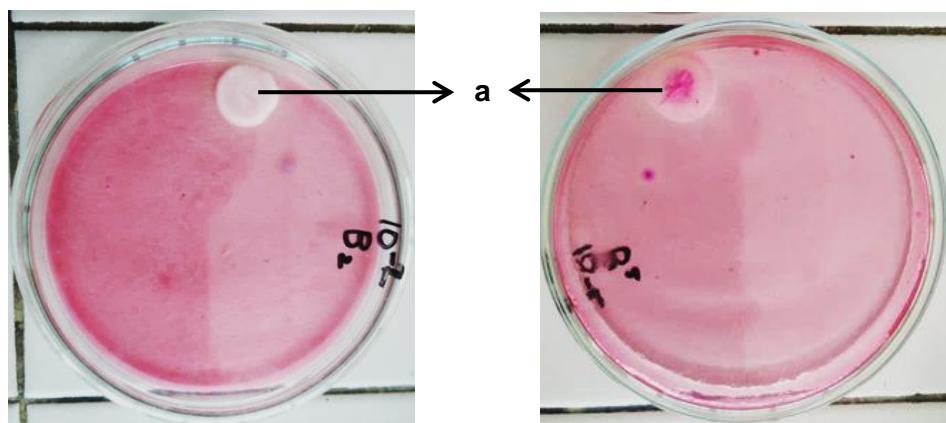
Pengamatan mikroskopik :



Gambar 7. *Cladosporium cladosporioides* hasil isolasi dari madu sampel A dengan perbesaran 40 x 10 (gambar A)

Sumber : Gandjar dkk, 2000:45 (gambar B)

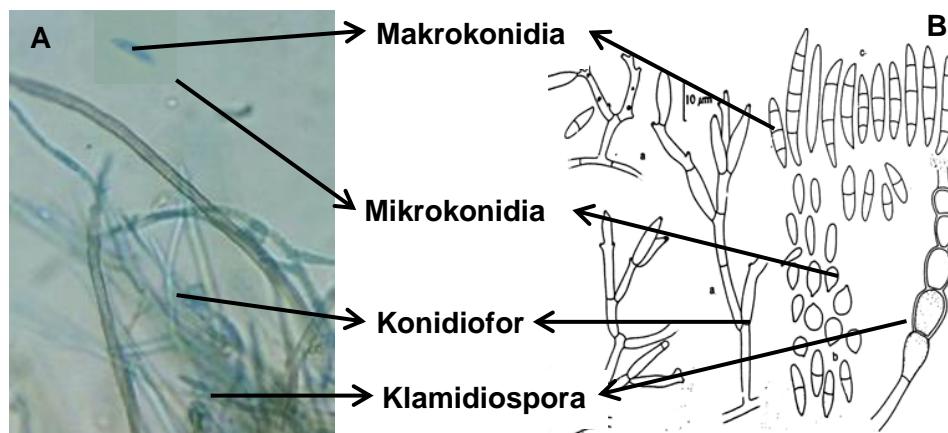
4.1.3.2 Sampel B



Gambar 8. Koloni sampel B₂, pada permukaan atas (kiri), pada permukaan bawah (kanan), dan *Fusarium sporotrichioides* (a)

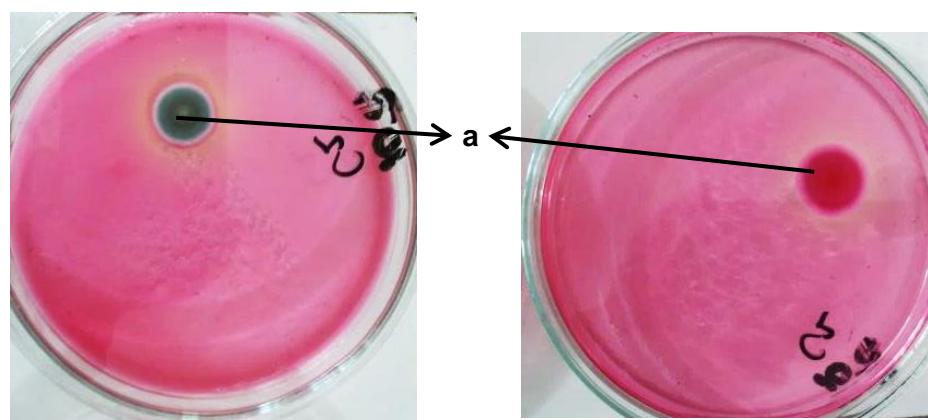
Koloni a : *Fusarium sporotrichioides* dengan ciri-ciri koloni pada permukaan atas berwarna putih seperti kapas, pada permukaan bawah berwarna putih.

- Determinasi berdasarkan buku Introduction to Food-Borne Fungi (Samson dkk., 1984:79) : 2b - 3a (*Fusarium sporotrichioides*).



Gambar 9. *Fusarium sporotrichioides* hasil isolasi dari sampel madu dengan perbesaran 40 x 10 (gambar A)
Sumber : Gandjar dkk, 2000:69 (gambar B)

4.1.3.3 Sampel C

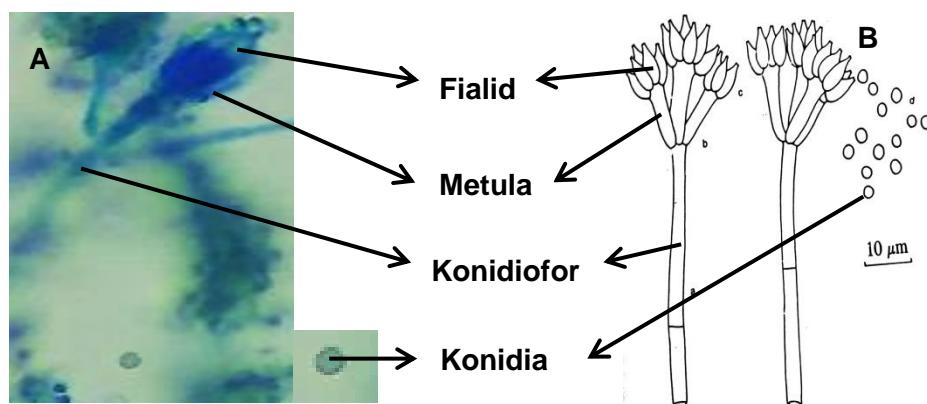


Gambar 10. Koloni sampel C pada permukaan atas (kiri), pada permukaan bawah (kanan), *Penicillium citrinum* (a)

Koloni a : *Penicillium citrinum* dengan ciri-ciri koloni pada permukaan atas berwarna biru kehijauan, pada permukaan bawah berwarna putih.

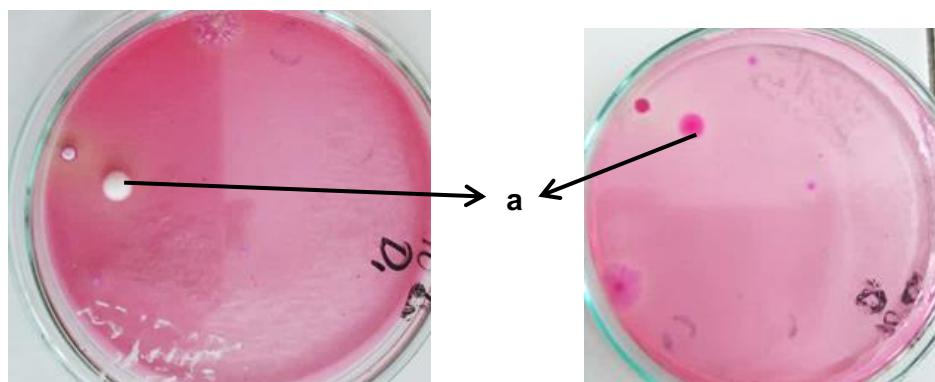
- Determinasi berdasarkan buku Introduction to Food-Borne Fungi (Samson dkk., 1984:98) : 10b – 11a (*Penicillium citrinum*)

Pengamatan mikroskopik :



Gambar 11. *Penicillium citrinum* hasil isolasi dari sampel madu dengan perbesaran 40 x 10 (gambar A)
Sumber : Gandjar dkk, 2000:93 (gambar B)

4.1.3.4 Sampel D

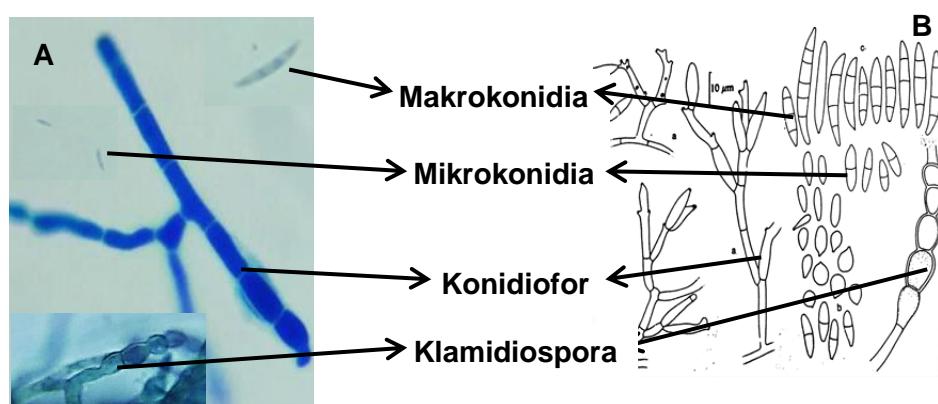


Gambar 12. Koloni sampel D₁ pada permukaan atas (kiri), pada permukaan bawah (kanan), dan *Fusarium sporotrichioides* (a)

Koloni a : *Fusarium sporotrichioides* dengan ciri-ciri koloni pada permukaan atas berwarna putih seperti kapas, pada permukaan bawah berwarna putih.

- Determinasi berdasarkan buku Introduction to Food-Borne Fungi (Samson dkk., 1984:79) : 2b - 3a (*Fusarium sporotrichioides*).

Pemeriksaan mikroskopik :



Gambar 13. *Fusarium sporotrichioides* hasil dari isolasi sampel madu dengan perbesaran 40×10 (gambar A)
Sumber : Gandjar dkk, 2000:93 (gambar B)

4.2 PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan madu secara mikologis menggunakan 2 sampel tidak bermerk, 2 sampel bermerk serta variasi harga. Secara makroskopis keempat sampel berwarna coklat namun yang pada sampel B berwarna coklat tua. Hasil perhitungan angka jamur pada sampel A $>60 \times 10^1$ koloni/gram, angka jamur sampel B $>1 \times 10^1$ koloni/gram, angka jamur sampel C $>1 \times 10^1$ koloni/gram, angka jamur sampel D $>1 \times 10^1$ koloni/gram. Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan 2009, Syarat mutu angka kapang khamir pada madu adalah $<1 \times 10^1$. Berdasarkan hasil tersebut bahwa semua sampel tidak memenuhi syarat angka kapang khamir sesuai Badan Pengawas Obat dan Makanan. Angka jamur pada

sampel A terdapat paling tinggi disebabkan karena adanya kontaminasi jamur dari alat-alat produksi madu, tempat menampung madu dan sedikitnya pengawet yang ditambahkan bahkan tanpa pengawet sehingga tidak dapat menekan pertumbuhan jamur. Madu dengan harga yang lebih mahal dapat memberikan kualitas dan keaslian madu yang diperoleh tanpa pengawet serta bahan-bahan tambahan daripada madu yang murah namun kemungkinan telah ditambahkan beberapa pengawet serta bahan-bahan tambahan.

Hasil inokulasi dari sampel madu pada medium Dichloran Rose Bengal Agar didapatkan koloni kapang kemudian dihitung angka jamur dan dibuat preparat menggunakan cat Lactophenol Cotton Blue untuk memperjelas struktur kapang. Identifikasi khamir yang tumbuh pada medium Dichloran Rose Bengal kemudian diinokulasi ke dalam medium Malt Ekstrak Agar untuk mengetahui jenis khamir. Identifikasi khamir dengan cara diisolasi pada medium yang spesifik yaitu MEA (Malt Ekstrak Agar) dengan beberapa penambahan glukosa agar 50%, CH_3COOH pekat 0,5%, NaCl 10% dan glukosa 12%. Pembuatan medium Malt Ekstrak Agar yang mengalami pemanasan terlalu lama akan menimbulkan struktur medium menjadi lebih lembut. Hal ini terjadi pada saat isolasi khamir dengan metode goresan, media mudah rusak sehingga harus lebih berhati-hati dalam menggoreskannya. Kesalahan yang terjadi kemungkinan pada saat pembuatan medium yang lama dan mencairkan kembali medium sehingga mengalami pemanasan beberapa kali.

Hasil identifikasi jamur dilakukan dengan metode taburan. Jenis jamur pada sampel A dengan metode taburan dari pengenceran 10^{-1}

adalah *Fusarium sporotrichioides*, *Saccharomyces bailii*, *Aspergillus tamarii*, dan *Cladosporium cladosporioides*. Jenis jamur pada sampel B dengan metode taburan dari pengenceran 10^{-1} adalah *Fusarium sporotrichioides*. Jenis jamur pada sampel C dengan metode taburan dari pengenceran 10^{-1} adalah *Penicillium citrinum*. Jenis jamur pada sampel D dengan metode taburan dari pengenceran 10^{-1} adalah *Fusarium sporotrichioides*.

Sampel A terdapat banyak jamur dikarenakan pada saat dilakukan pengenceran paling keruh diantara pengenceran sampel yang lain. Pengenceran pada sampel B berwarna coklat paling tua dibandingkan dengan pengenceran yang lain. Sampel C dan sampel D pada saat pengenceran berwarna coklat muda jernih, namun warna pengenceran pada sampel C lebih muda dibandingkan dengan sampel D.

Medium yang digunakan untuk identifikasi kapang adalah DRBC atau Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol adalah medium yang paling cocok untuk menghitung jumlah kapang atau khamir, karena dapat menekan dan membatasi pertumbuhan kapang yang melebar tanpa mempengaruhi perkecambahan dari spora secara berlebihan. Rose bengal yang terdapat pada medium dapat menekan pertumbuhan bakteri, membatasi ukuran koloni jamur. Penghambatan yang terjadi dapat membantu isolasi jamur yang tumbuh lebih lambat dengan mencegah pertumbuhan berlebih pada spesies jamur yang lebih cepat (Pitt dan Hocking, 1985). Medium Malt Ekstrak Agar adalah medium yang paling disarankan untuk pertumbuhan khamir, karena terdapat maltosa yang tinggi.

Fusarium sporotrichioides dengan koloni berwarna putih, kemudian menjadi kuning, atau agak merah muda hingga ungu dan akhirnya menjadi coklat. Pada permukaan bawah koloni berwarna merah kekuningan hingga agak coklat. *Fusarium sporotrichioides* mempunyai ciri-ciri konidiofor bercabang atau tidak bercabang, terdapat banyak mikrokonidia, makrokonidia berbentuk sabit, khlamidospora banyak berbentuk bulat dan berdinding halus. Habitat *Fusarium sporotrichioides* ini kosmopolit dapat ditemukan di daerah tropis dan beriklim sedang, telah diisolasi dari tanah, aneka tumbuhan, khususnya biji-bijian serta biji ketimun. *Fusarium sporotrichioides* memiliki suhu optimum 22,5°-27,5°C dan maksimum 35°C (Gandjar dkk, 2000).

Fusarium sporotrichioides merupakan spesies yang menghasilkan toksin Trichotenes (T-2) salah satu toksin paling beracun. Toksin Trichotenes (T-2) dapat menyebabkan hematotoksik dan imunosupresif. Gejala pada hewan akan mengalami muntah-muntah, penolakan makan dan diare merupakan gejala tipikal, pada manusia terjadi edema kulit. Mikotoksin pada *Fusarium sporotrichioides* juga dapat menyebabkan Alimentary toxic aleukia pada manusia dan hewan. Alimentary toxic aleukia adalah suatu toksikosis yang disebabkan oleh konsumsi biji-bijian yang terkontaminasi dengan beberapa jenis mikotoksin, ditandai dengan mual, muntah, diare, leukopenia (aleukia), perdarahan, peradangan kulit, dan kasus yang parah, kematian (Hocking dkk, 2006). Toksin T-2 merupakan mikotoksin golongan dari trikotesena yang bersifat toksik melalui penghambatan sintesis protein pada ribosom. Toksik T-2 menyebabkan

iritasi pada kulit dan bersifat teratogenik. Toksin T-2 diproduksi oleh *Fusarium sporotrichioides* dengan suhu optimal 24°-26°C (Widiastuti, 2006).

Aspergillus tamarii dengan koloni berwarna coklat kekuningan yang cepat berubah menjadi coklat kehijauan. *Aspergillus tamarii* memiliki ciri-ciri konidiofor berwarna hialin, berdinding kasar yang mencolok. Konidia berbentuk bulat kemudian merekah, vesikula berbentuk bulat hingga semibulat. Konidia berbentuk bulat hingga semibulat, berwarna kecoklatan, serta dinding konidia bagian luar dapat terlihat jelas. Spesies ini merupakan kapang tropis yang sangat umum, banyak ditemukan pada rempah-rempah, jagung, serealia, tanah, serasah serta udara (Gandjar dkk, 2000).

Spesies *Aspergillus* mampu memproduksi aflatoksin, namun *Aspergillus tamarii* tidak menghasilkan aflatoksin. *Aspergillus tamarii* menghasilkan mikotoksin Asam Cyclopiazonic (CPA). Toksin yang dihasilkan dapat menyebabkan fokal nekrosis di berbagai organ dalam atau organ saluran. Asam cyclopiazonic menyebabkan efek tambahan pada otot-otot dan tulang-tulang (Hocking dkk, 2006). Asam cyclopiazonic juga dapat menyebabkan reaksi alergi pada pernafasan, namun hanya sedikit kasus yang terjadi pada manusia (Asna dkk, 2016). *Aspergillus tamarii* dapat menyebabkan hepatotoksik akut pada manusia dan binatang juga menghasilkan asam kojik, namun tingkat toksitasnya rendah. Asia Tenggara pada komoditas makanan telah diteliti sering terinfeksi *Aspergillus tamarii*. Lada di Indonesia sangat tercemar, walaupun sedikit lebih rendah dari tingkat kacang-kacangan. *Aspergillus tamarii* juga ditemukan pada kemiri, biji merica dan kacang kedelai dari Filipina, kelapa

kopra dan kacang hitam dari Thailand dan padi dari Indonesia (Pitt dan Hocking, 2009)

Cladosporium cladosporioides pada penampang muka seperti beludru, koloni hijau kecoklatan atau hijau keabu-abuan, sebalik koloni berwarna hijau kehitaman. Konidiofor lateral atau terminal pada hifa, panjangnya dapat mencapai 350 μ m dan lebar 2-6 μ m tanpa perpanjangan atau pembengkakan. Konidia membentuk rantai, berwarna pucat sampai coklat kehijauan, berdinding halus atau sedikit kasar. Konidia terdapat pada rantai yang bercabang, umumnya bersel satu, berbentuk oval, atau mirip buah jeruk lemon. Ramokonidia terdapat pada basis dari rantai bersepta 1 hingga 2, bentuk silindris, berwarna coklat atau hijau kecoklatan, dinding halus atau sedikit kasar. Spesies ini sangat umum tersebar diseluruh dunia, terdapat ditanah, pada bagian-bagian tanaman, udara, tekstil, bahan pangan, biji-bijian, sayuran, dan lingkungan ruang terbuka (Gandjar dkk, 2000).

Cladosporium cladosporioides tidak dikenal untuk menghasilkan mikotoksin. Spesies ini terisolasi dari banyak jenis makanan termasuk gandum, tepung, daging beku, dan sayuran segar. *Cladosporium cladosporioides* dapat menyebabkan perkembangbiakan mikroba dari lemari es. *Cladosporium cladosporioides* merupakan jamur dominan yang dapat menyebabkan kerugian pada blok keju (Pitt dan Hocking, 2009).

Saccharomyces bailii dengan koloni berbentuk halus, licin, bulat, cembung dan putih sampai berwarna krem diameter 2-3 mm pada 3-7 hari. *Saccharomyces bailii* lebih menyukai lingkungan ekologis yang bertekanan

osmotik yang tinggi. Habitat paling sering dijumpai adalah buah kering, di kebun anggur dan kebun buah (Samson, 1984). *Saccharomyces bailii* tahan terhadap pengawet makanan dan minuman seperti asam asetat. Suhu optimal pertumbuhan *Saccharomyces bailii* berkisar 30°-32°C, pada glukosa 60% berkisar 34°-36°C, suhu minimum untuk pertumbuhan *Saccharomyces bailii* adalah 6,5°C pada 10% dan 30% glukosa meningkat menjadi 13°C di glukosa 60%. *Saccharomyces bailii* tahan terhadap pengawet asam lemah seperti asam asetat, asam laktat, propionat, benzoat, asam sorbat dan sulfur dioksida. Gula adalah komponen umum dari makanan dan minuman, fermentasi adalah ciri khas dari proses pembusukan. Pada prinsipnya gula akan diubah menjadi etanol dan CO₂ yang menyebabkan produk kehilangan rasa manis dan memperoleh aroma alkohol khas. *Saccharomyces bailii* tumbuh di 37°C dalam konsentrasi gula rendah. *Saccharomyces bailii* adalah jamur xerofilik yang mampu tumbuh pada aw rendah (0,80) pada suhu 25°C. *Saccharomyces bailii* tahan terhadap pengawet (Pitt dan Hocking, 2009).

Penicillium citrinum dengan koloni seperti kulit keras, berwarna biru kehijauan, sebalik koloni berwarna kuning jingga. Konidiofor berdinding halus, mempunyai metula berjumlah 3-5. Fialid berbentuk botol, konidia berbentuk bulat atau semibulat, berdinding halus kadang-kadang sedikit kasar, berwarna kehijauan. Spesies ini dapat ditemukan di seluruh dunia, dan pada umumnya terdapat pada daerah tropis, spesies ini mudah diisolasi dari udara, serealia, rempah-rempah, serasah, sayuran, kertas, sarang burung, bulu burung, bahan makanan, dari tepung dan jus buah-

buah. Pembentukan konidia sangat cepat pada suhu 30°C pada daerah tropis (Gandjar dkk, 2000).

Penicillium citrinum menghasilkan mikotoksin citrinin, toksin ini ditemukan pada sereal, kacang-kacangan dan produk daging. Citrinin adalah toksin ginjal untuk binatang domestik termasuk babi. Diare berair serta peningkatan konsumsi makanan pada burung dalam negeri disebabkan oleh citrinin. Dampak citrinin telah dilaporkan menyebabkan teratogen pada tikus dan sel T pada manusia (Pitt dan Hocking, 2009)

Sifat fisiologis dari masing-masing jamur adalah : (a) *Aspergillus tamarii* mampu tumbuh dengan a_w 0,78 pada suhu 33°C serta dapat menurunkan kafein dalam sisa kopi (b) *Cladosporium cladosporioides* mampu tumbuh pada suhu minimum -5°C dan maksimum mendekati 32°C. (c) *Fusarium sporotrichioides* mampu tumbuh pada suhu optimal 22,5°C sampai 27,50°C dan maksimum pada 35°C. (d) *Penicillium citrinum* mampu tumbuh pada suhu minimum 5°C, suhu maksimum mendekati 37°C, dan suhu optimum 26°C sampai 30°C. (e) *Saccharomyces bailii* mampu tumbuh pada minimum pH 2,2-2,5 dan a_w yang rendah. *Saccharomyces bailii* mampu memfermentasi madu sehingga dapat menimbulkan buih dan kadar gula dalam madu tersebut akan berkurang digunakan untuk fermentasi (Pitt dan Hocking, 1985). Sifat dari *Saccharomyces bailii* yang paling menonjol adalah resisten terhadap asam lemah pada bahan pengawet seperti asam sorbat, asam bonzoat, asam propinoat. Kemampuan *Saccharomyces bailii* untuk bertahan hidup dan tumbuh pada banyak konsentrasi yang lebih tinggi. *Saccharomyces bailii* juga tahan pada kombinasi alkohol dan amino yang ada dengan anggur.

Saccharomyces bailii dapat melakukan fermentasi 400mg/kg atau lebih dari asam benzoat (Pitt dan Hocking, 2009).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- a. Pemeriksaan angka jamur pada 4 sampel madu yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa ke empat sampel madu tersebut tidak memenuhi syarat mutu secara mikologis menurut standar mutu BPOM 2009.
- b. Jenis jamur yang ditemukan pada sampel madu adalah *Fusarium sporotrichioides*, *Saccharomyces bailii*, *Aspergillus tamarii*, dan *Cladosporium cladosporioides* dan *Penicillium citrinum*.

5.2 Saran

- a. Produsen madu diharapkan lebih memperhatikan kebersihan pada saat proses pemanenan hingga proses pengemasan produk madu. Semua perlakuan tersebut dilakukan untuk mengurangi kontaminasi mikroba karena madu dapat dikonsumsi oleh semua umur.
- b. Kepada konsumen agar lebih berhati-hati dalam memilih madu dan mencermati tanggal kadaluarsa atau data expired (-ed).

DAFTAR PUSTAKA

- Asna, P.M.A., Mastika, Laily M.K., dan Hastuti, U.S. 2016. "Isolasi dan Identifikasi Kapang Kontaminan pada Jamu Serbuk yang Dijual di Kota Pare Kabupaten Kediri".
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2009. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Dewi, M.M. (2016)."Uji Angka Kapang/Khamir (AKK) dan Angka Lempeng Total (ALT) pada Jamu Gendong Temulakawak di Pasar Tarumanegara Magelang".Skripsi. Yogyakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.
- Evahelda, F.P., Nura Malahayati., dan Budi Santoso. 2015. "Uji Aktivitas Enzim Diastase, Kadar Gula Pereduksi dan Kadar Air pada Madu Bangka dan Madu Kemasan yang dipasarkan di Kota Palembang ".
- Gandjar, Indrawati., Robert A.S., Karin van den Tweel V., Ariyanti O., dan Iman S. 2000. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia.
- Gandjar, Indrawati dan Wellyzar Sjamsuridzal. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta : Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Hocking, A.D., Pitt, J.I., Samson R.A., dan Thrane, U. 2006. *Advances In Food Mycology*. Amerika : Springer.
- Noverita. 2009." Identifikasi Kapang dan Khamir Penyebab Manusia pada Sumber Air Minum Penduduk pada Sungai Ciliwung dan Sumber Air Sekitarnya". *Vis Vitalis*, 12-13.
- Pitt, John dan Hocking, Ailsa D. 1985. *Fungi and Food Spoilage*. Sidney: Academic Press .
- Pitt, John dan Hocking, Ailsa D. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. New York: Springer science.
- Putri, N. N. 2014. "Manfaat Mengonsumsi Campuran Larutan Madu dan Bubuk Kayu Manis Terhadap Penurunan Tingkat Halitosis". Skripsi. Denpasar : Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mahasaraswati.
- Sahputra, Ardin. 2014. "Uji Efektifitas Ekstrak Madu Karet dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*". 46.
- Sakri, Faisal.M. 2015. *Madu dan Khasiatnya*. Yogyakarta : Diandra Pustaka Indonesia.

Samson, R.A., Hoekstra, E.S., dan Oorschot, C.A.N.V. 1984. *Introduction to Food-Borne Fungi*. Netherland : Academy of Arts and Sciences.

Saputra, A.A. 2012."Pembuatan Madu Kering dari Kristal Madu dengan Kafein Sebagai Bahan Anti Caking". Skripsi. Depok : Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

Standar Nasional Indonesia. 2004. Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3545-2004, Madu. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.

Sumarmianti, D. K. 2008."Uji Angka Lempeng Total, Angka Kapang/Khamir Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val) dan Ekstrak Daging Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica* L) dari PT.X". Skripsi. Yogyakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Teurupun, Andreas., Samuel M. Timbowo., dan Joyce CV P. 2013. "Identifikasi Kapang pada Rumput Laut *Eucheuma cottonii* (*Kappaphycus alvarezii*) Kering dari Desa Rap Rap Arakan Kecamatan Tatapaan Kabupaten Minahasa Selatan". *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(1):13.

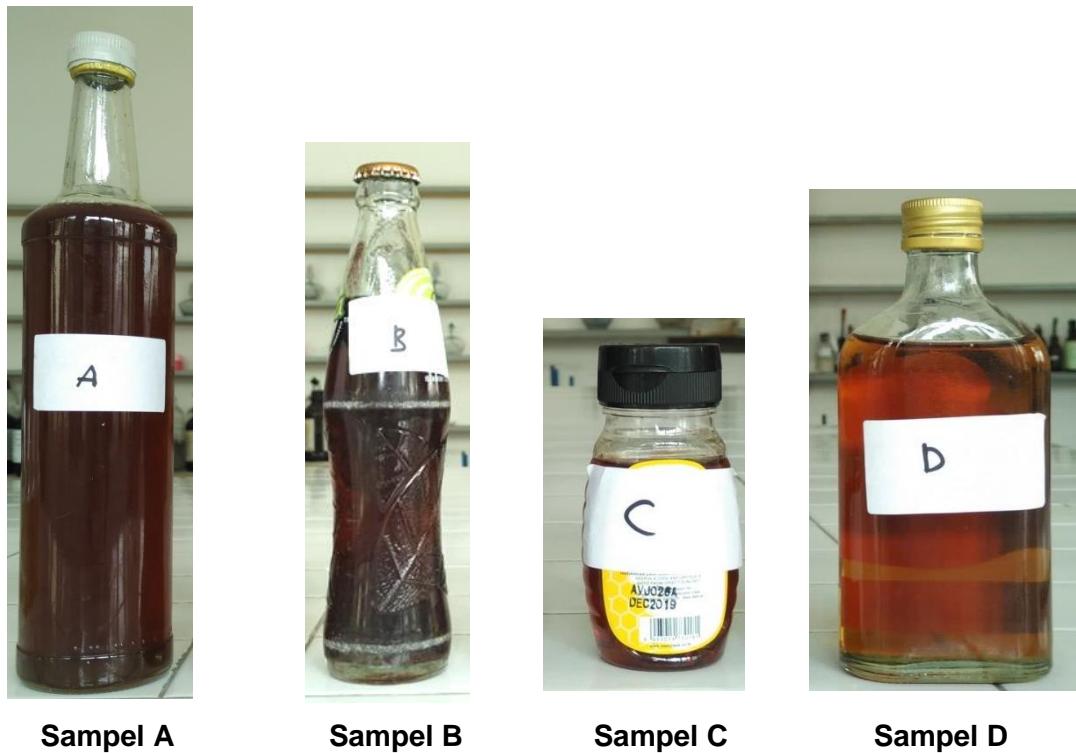
Thearesti, C.C. 2015."Uji Angka Kapang/Khamir dan Identifikasi *Escherichia coli* dalam Jamu Kunyit Asam dari Penjual Jamu di Wilayah Ngawen Klaten". Skripsi. Yogyakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Wibowo, Bagus A., Muhammad Rivai, dan Tasripa. 2016. "Alat Uji Kualitas Madu Menggunakan Polarimeter Dan Sensor Warna". *Jurnal Teknik ITS*, 5(1):28-29.

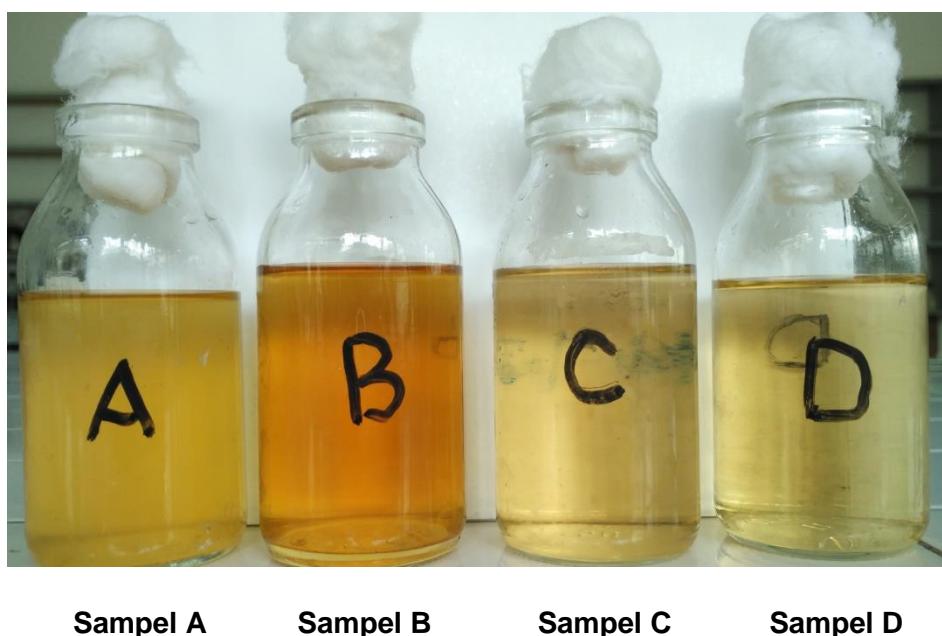
Widiastuti, Raphaella, 2006."Mikotoksin : Pengaruh Terhadap Kesehatan Ternak dan Residunya dalam Produk Ternak serta Pengendaliannya". *Jurnal Wartazoa*, 16(3).

Yuliarti, Nurheti. 2015. *Khasiat Madu untuk Kesehatan dan Kecantikan*. Yogyakarta : Rapha Publishing.

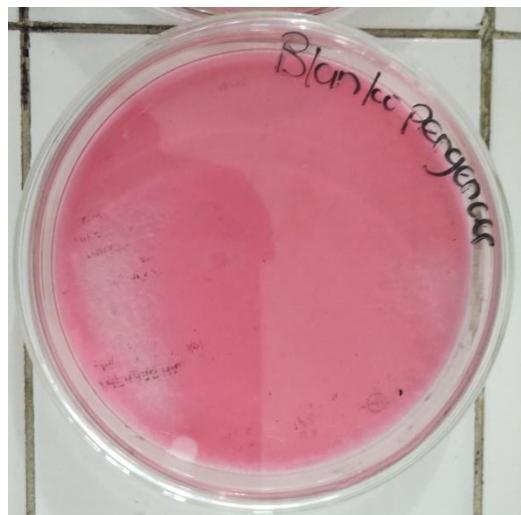
Lampiran 1. Gambar sampel



Lampiran 2. Pengenceran 10^{-1}



Lampiran 3. Blanko



Blanko Pengencer



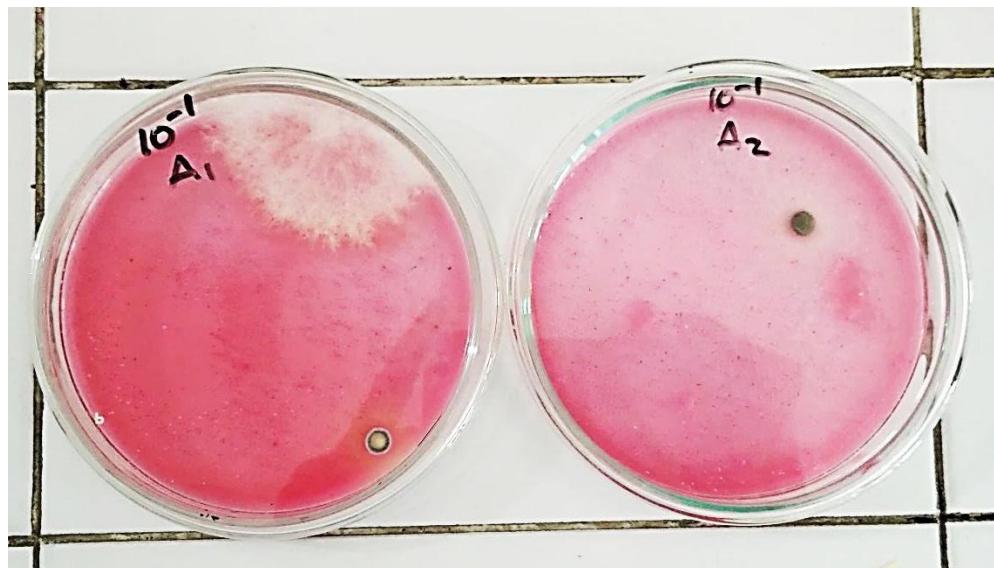
Blanko Enkas



Blanko Media

Lampiran 4. Koloni pada cawan Petri media DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar)

a. Sampel tidak bermerk

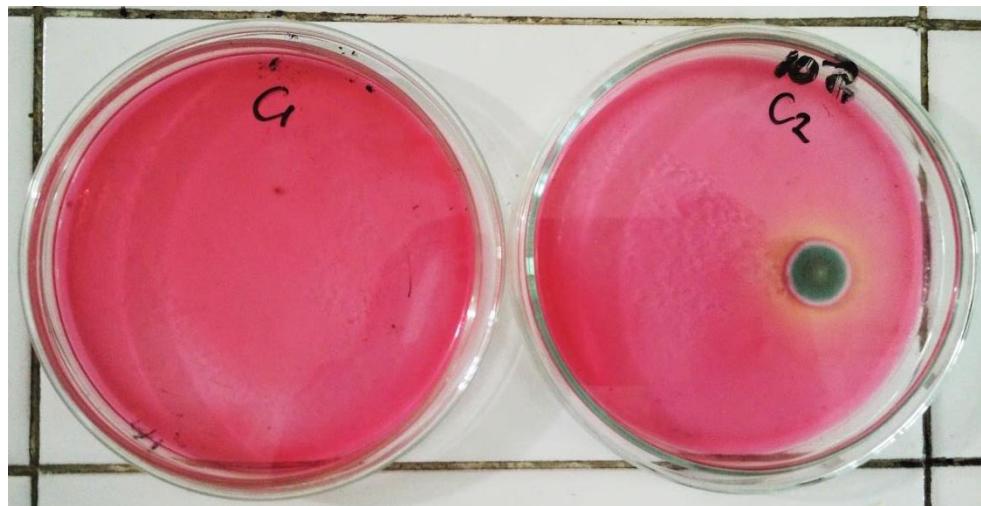


Sampel A

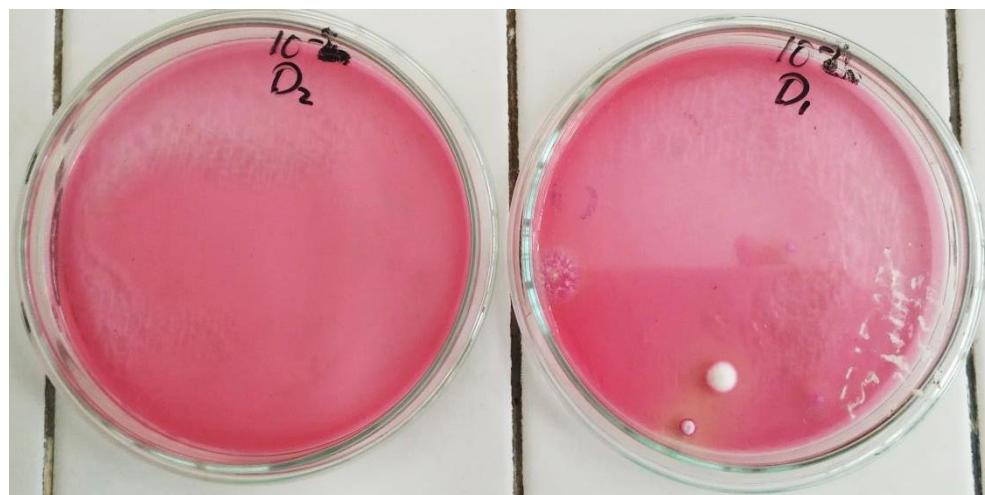


Sampel B

b. Sampel bermerk

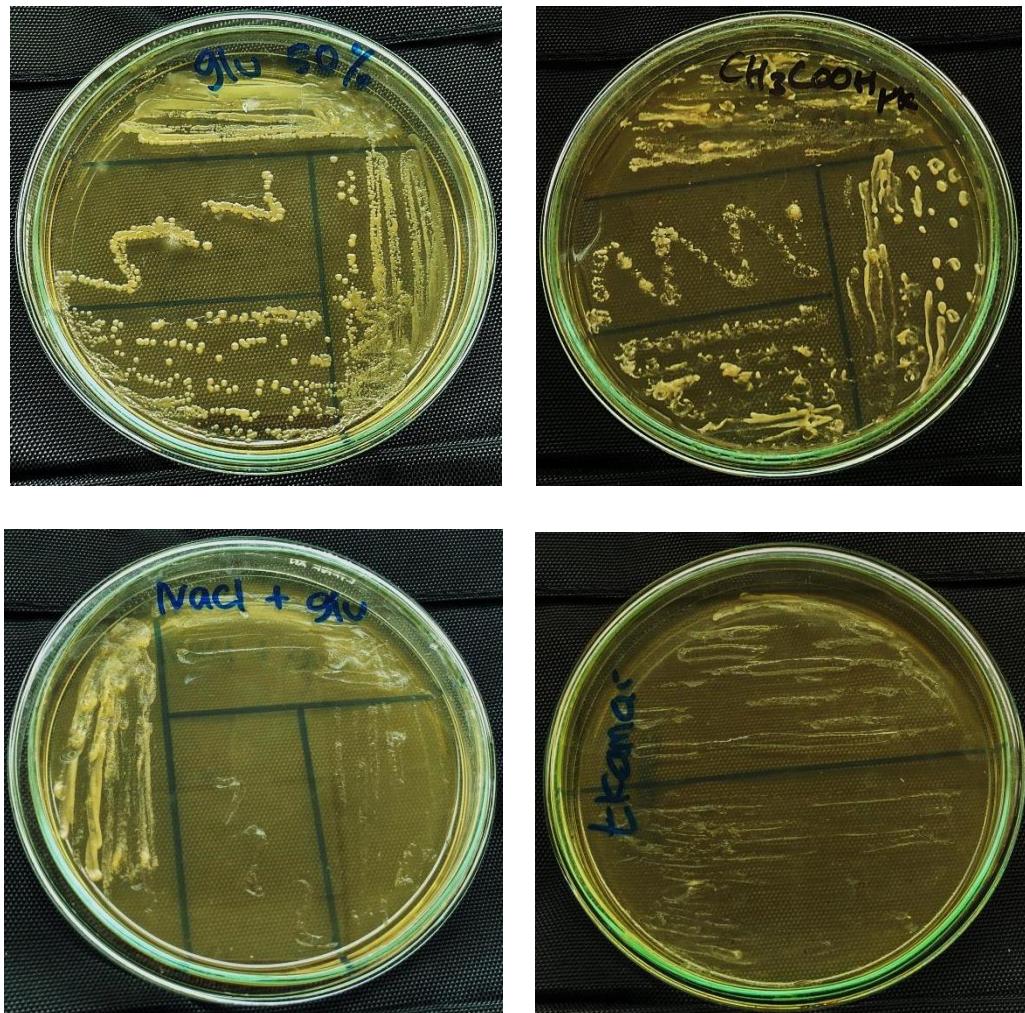


Sampel C



Sampel D

Lampiran 5. Koloni khamir pada media MEA (Malt Extract Agar)



Lampiran 6. Kunci Determinasi Spesies Aspergillus (Samson dkk, 1984:52&53)

1a. Colonies white, yellow, brown or black	2
1b. Colonies in some shade of green	6
2a. Conidial heads white, often wet	<i>A. candidus</i>
2b. Conidial heads yellow, brown or black	3
3a. Conidial heads dark brown to black	<i>A. niger</i>
3b. Conidial heads yellow to brown	4
4a. Conidial heads columnar, often cinnamon-brown to pinkish-brown	<i>A. terreus</i>
4b. Conidial heads not columnar, colour yellow or brown	5
5a. Conidial heads yellow, conidia smooth to finely roughened	<i>A. ochraceus</i>
5b. Conidial heads brown, conidia conspicuously ornamented	<i>A. tamarii</i>
6a. Conidiophores brown, Hülle cells present (see also p. 30)	<i>A. nidulans</i>
6b. Conidiophores not brown	7
7a. Colonies on Czapek or MEA restricted (diam usually less than 1 cm within one week)	8
7b. Colonies growing fast	10
8a. Colonies variably coloured, conidial head biseriate	<i>A. versicolor</i>
8b. Colonies grayish-green, conidial heads uniseriate, conidia often ornamented	9
9a. Conidial heads columnar, <i>Eurotium</i> teleomorph absent on media + additional sugar or salt	<i>A. penicilloides</i>
9b. Conidial heads not columnar, <i>Eurotium</i> teleomorph produced in old cultures or on media + sugar or salt	<i>A. glaucus</i>
10a. Conidial heads yellow-green	11
10b. Conidial heads blue to dark green	13
11a. Conidial heads strictly uniseriate	<i>A. parasiticus</i>
11b. Conidial heads uni- and biseriate	12
12a. Conidia definitely echinulate	<i>A. flavus</i>
12b. Conidia irregularly roughened or smooth	<i>A. oryzae</i>
13a. Conidial heads columnar, vesicles broadly clavate, conidia rough to echinulate	<i>A. fumigatus</i>
13b. Conidial heads not columnar, vesicles narrowly clavate, conidia smooth-walled	<i>A. clavatus</i>

Lampiran 7. Kunci Determinasi Spesies Cladosporium (Samson dkk, 1984:175)

- | | |
|--|---------------------------|
| 1a. Conidiophores not elongating sympodially; conidia usually not exceeding
- 4.5 μm in width, smooth or slightly roughened. | 2 |
| 1b. Conidiophores commonly elongating sympodially; conidia usually exceeding
- 5.0 μm in width, distinctly verrucose. | 3 |
| 2a. Most one-celled conidia (sub)globose, 3-4.5 μm in diameter, finely roughened | <i>C. sphaerospermum</i> |
| 2b. Most one-celled conidia elongate, 3-7(-11) x 2-4(5) μm , smooth-walled or nearly so | <i>C. cladosporioides</i> |
| 3a. One-celled conidia mostly 5.5-13 x 4-6 μm ,
- 2-3-celled conidia also present; somewhat larger | <i>C. herbarum</i> |
| 3b. One-celled conidia mostly 7-17 x 5-8 μm ,
2-3-celled conidia common, considerably larger | <i>C. macrocarpum</i> |

Lampiran 8. Kunci Determinasi Spesies Fusarium (Samson dkk, 1984:78&79)

1a. Distinct micro-conidia generally abundant	2
1b. Distinct micro-conidia absent, macro-conidia sometimes variable in size	5
2a. Micro-conidia formed in chains (use low-power lens of microscope) Culture commonly creamish, peach to violet, reddish or brownish-yellow	<i>F. verticillioides</i>
2b. Micro-conidia not formed in chains	3
3a. Micro-conidia formed from polyblastic conidiogenous cells	4
3b. Micro-conidia formed from simple phialides	4
4a. Culture appearing purple, more intense near surface. Aerial mycelium at first whitish, becoming purplish, sparse or floccose. Micro-phialides not elongated	<i>F. oxysporum</i>
4b. Culture grayish-white with sparse, floccose aerial mycelium or appearing leathery. Later formed micro-phialides elongated	<i>F. solani</i>
5a. Macro-conidia comparatively uniform in shape and size. Cultures with whitish-yellow, pink, brownish-red floccose aerial mycelium	<i>F. culmorum</i>
5b. Macro-conidia heterogenous, some resemble micro-conidia	6
6a. Macro-conidia always formed from simple phialides, often with strongly elongated apical cell. Culture whitish to buff; aerial mycelium floccose, or sparse	<i>F. equiseti</i>
6b. Macro-conidia at least initially formed from polyblastic conidiogenous cells	7
7a. Conidia only initially formed from polyblastic cells. Cultures pale, yellow-red to reddish-brown, floccose. Chlamydospores in mycelium absent (sometimes present in conidia)	<i>F. avenaceum</i>
7b. Conidia always formed from polyblastic cells. Culture whitish to brownish-rose, floccose. Chlamydospores intercalary (often sparse)	<i>F. semitecnum</i>

Lampiran 9. Kunci Determinasi Spesies Penicillium (Samson dkk, 1984:99)

1a. Colonies yellow-brown, becoming olive-green, phialides with long neck	<i>Paecilomyces variotii</i>
1b. Colonies white or in green shades, phialides with short neck	2
2a. Colonies white	3
2b. Colonies in some shade of green	4
3a. Conidiophore with rough stipe	<i>P. camemberti</i>
3b. Conidiophore with smooth stipe	<i>P. nalgiovense</i>
4a. Colonies on Czapek growing poor, conidiophores short with distinct large phialides (15-20 μm long) and ellipsoidal to cylindrical conidia	<i>P. digitatum</i>
4b. Colonies on Czapek growing well, conidiophore with distinct long stipe and smaller phialides (5-12 μm)	5
5a. Conidiophores simple	<i>P. frequentans</i>
5b. Conidiophores branched	6
6a. Phialides lanceolate, conidiophores with terminal whorl of metulae and phialides (one-stage branched)	<i>P. funiculosum</i>
6b. Phialides flask-shaped, conidiophores one- to three- stage branched	7
7a. Colonies growing fast, diameter more than 1 cm within one week	8
7b. Colonies restricted, diameter less than 1 cm within one week	9
8a. Conidia rough, ellipsoidal	<i>P. rugulosum</i>
8b. Conidia smooth or rough, often fusiform	<i>P. variabile</i>
9a. Conidiophores one-stage branched	10
9b. Conidiophores two-to three-stage branched	12
10a. Conidiophore stipe rough	<i>P. paraherquei</i>
10b. Conidiophore stipe smooth	11
11a. Colonies restricted, growing less than 1 cm within one week; reverse yellow	<i>P. citrinum</i>
11b. Colonies growing more than 1 cm within one week, reverse dark green to black	<i>P. corylophilum</i>
12a. Conidiophore stipe rough	13
12b. Conidiophore stipe smooth	17
13a. Conidia echinulate	<i>P. echinulatum</i>
13b. Conidia smooth to finely rough	14
14a. Conidiophore stipe conspicuously warted, conidia 4-5 μm in diam, colonies without odour	<i>P. roquesforti</i>
14b. Conidiophore stipe rough, but not warted, conidia 3-4 μm in diam, colonies often with pronounced odour	<i>P. verrucosum</i> (see further p. 134)
15a. Conidiophores large, compact with 4-6 μm wide stipes, colonies mostly restricted	<i>P. brevicompactum</i>
15b. Conidiophores with stipes of 2.5-4.0 μm wide, colonies growing relatively fast	16
16a. Colonies velvety, often with yellow exudate and reverse; conidia globose to ellipsoid	<i>P. chrysogenum</i>
16b. Colonies with aggregated conidiophores (fasciculate), yellow exudate mostly lacking; conidia subglobose, ellipsoid to cylindrical	17
17a. Phialides short, less than 6.5 μm long	<i>P. griseofulvum</i>
17b. Phialides longer	18
18a. Colonies 4-5 cm diam within 14 days; conidia subglobose to ellipsoid; responsible for rot of pomaceous fruit	<i>P. expansum</i>
18b. Colonies 2.0-2.5 cm diam within 14 days; conidia ellipsoid to cylindrical; responsible for citrus rot	<i>P. italicum</i>

Lampiran 10. Kunci determinasi spesies *Saccharomyces* (Pitt dan Hocking, 1985:341)

- | | |
|--|---|
| 1. Colonies white, off-white or brownish | 2 |
| Colonies pink to red | <u>Rhodotorula glutinis</u>
<u>Rhodotorula rubra</u> |
| 2. Cells dividing by transverse fission | <u>Schizosaccharomyces pombe</u> |
| Cells dividing by budding | 3 |
| 3. Growth on MY10-12 | 4 |
| No growth on MY10-12 | 5 |
| 4. Cells nearly spherical, mostly 2.5-4.0 μ m diam | <u>Debaryomyces hansenii</u> |
| Cells ellipsoidal, mostly more than 5 μ m long | <u>Saccharomyces rouxii</u> |
| 5. Growth on MEA + 0.5% acetic acid | 6 |
| No growth on MEA + 0.5% acetic acid | 9 |
| 6. Growth on MY50G, no growth at 37° | <u>Saccharomyces baillii</u> |
| No growth on MY50G, usually growth at 37° | 7 |
| 7. Cells mostly 4-6 μ m long; growth at 37° weak at most | <u>Pichia membranefaciens</u> |
| Cells often exceeding 6 μ m long; growth at 37° vigorous | 8 |
| 8. Larger cells long cylinders, up to 25 μ m long; isolated colonies on MEA at 25° often exceeding 5 mm diam | <u>Candida krusei</u> |
| Larger cells ellipsoids, rarely exceeding 12 μ m long; isolated colonies on MEA at 25° not exceeding 5 mm diam | <u>Saccharomyces cerevisiae</u> |
| 9. Growth at 37° | 10 |
| No growth at 37° | 11 |
| 10. Cells narrow ellipsoids, 4-7 μ m long; isolated colonies on MEA at 25° not exceeding 2.5 mm diam | <u>Brettanomyces intermedium</u> |

Lampiran 11. Komposisi dan Prosedur Pembuatan DRBC (Dichloran Rose

Bengal Chloramphenicol)

1. Komposisi khas medium lengkap DRBC (dapat disesuaikan untuk mendapatkan kinerja yang optimal) untuk 1 liter medium :

Pepton, bakteriological	5,0 g
Glukosa	10,0 g
Monopotassium fosfat	1,0 g
Magnesium sulfat, 7H ₂ O.....	0,5 g
Dichloran (dikloro-2,6-nitro-4-anilin)	0,002 g
Rose bengal.....	25,0 mg
Kloramfenikol	100 mg
Agar	15,0 g
aquadest	add 1 L
pH dari siap untuk menggunakan media pada 25 ° C : 5,6 ± 0,2	
(Pitt dan Hocking, 1985).	

2. Prosedur pembuatan :

- 32,2 g medium DRBC ditambah 200 ml aquadest, ditambah 0,2 g kloramfenikol kemudian ditambah aquadest sampai 1 liter.
- Dipanaskan dengan pemanasan yang stabil sampai mendidih.
- Dituangkan pada tabung reaksi, masing-masing 10 ml.
- Disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

Lampiran 12. Komposisi dan Prosedure Pembuatan LCB (Lactophenol Cotton Blue)

1. Komposisi

Kristal fenol	20,0 g
Bubuk cotton blue.....	0,050 g
Asam Laktat	20,0 ml
Gliserin	20,0 ml
Aquadest.....	20,0 ml

2. Cara pembuatan :

- a. Asam laktat dilarutkan dengan aquadest di dalam erlenmeyer hingga homogen.
- b. Ditambahkan kristal fenol sampai larut kemudian ditambahkan gliserol.
- c. Setelah larut ditambahkan bubuk cotton blue sampai menjadi warna biru.

Lampiran 13. Komposisi dan prosedur pembuatan SGA (Sabouraud Glukosa Agar)

1. Komposisi :

Pepton	10,0 g
Glukosa.....	40,0 g
Agar	15,0 g
Kloramfenikol	0,050 g
Aquadest.....	add 1 L

pH pada suhu 25°C : 5,6 ± 0,2

2. Cara pembuatan :

- a. Semua bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml, diaduk sampai larut dan homogen.
- b. Dipanaskan dengan pemanasan stabil sampai mendidih.
- c. Disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

Lampiran 14. Komposisi dan Prosedur Pembuatan MEA (Malt Ekstrak Agar)

1. Komposisi :

Malt ekstrak, bubuk 20 g
Pepton 1,0 g
Glukosa 20 g
Agar 20,0 g
Aquadest..... add 1 L
pH 5,6 ± 0,2

2. Cara pembuatan

- a. 48 g media dalam 200 ml aquadest diaduk dan homogenkan kemudian ditambahkan aquadest sampai 1000 ml.
- b. Dipanaskan dengan pemanasan stabil sampai mendidih.
- c. Sterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit tidak disterilkan atau diulangi pemanasan lebih lama karena akan menjadi lunak.

(Pitt dan Hocking, 2009).

Lampiran 15. Badan Pengawas Obat dan Makanan



BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN
REPUBLIK INDONESIA

LAMPIRAN
PERATURAN KEPALA BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN
REPUBLIK INDONESIA
NOMOR HK.00.06.1.52.4011
TANGGAL 28 OKTOBER 2009

A. JENIS DAN BATAS MAKSIMUM CEMARAN MIKROBA DALAM MAKANAN

No.	Jenis makanan	Jenis cemaran mikroba	Batas maksimum
Produk-produk susu dan analognya			
1	Susu pasteurisasi (<i>plain</i> atau berperisa)	ALT (30°C, 72 jam) APM Koliform APM <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	5x10 ⁴ koloni/ml 10/ml * <3/ml negatif/25 ml 1 x 10 ² koloni/ml negatif/25 ml
2	Susu steril dan susu UHT (<i>plain</i> atau berperisa)	ALT (30°C, 72 jam) setelah inkubasi selama 15 hari	< 10 koloni/0,1 ml
3	Susu fermentasi (<i>yogurt</i>) (<i>plain</i> atau berperisa)	APM Koliform <i>Salmonella</i> sp. <i>Listeria monocytogenes</i>	10/ml * negatif/25 ml negatif/25 ml
4	Susu evaporasi dan susu skim evaporasi	ALT (30°C, 72 jam) APM Koliform <i>Salmonella</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁴ koloni/ml 10/ml * negatif/25 ml 1 x 10 ² koloni/ml
5	Susu kental manis dan susu skim kental manis (<i>plain</i> atau berperisa)	ALT (30°C, 72 jam) APM Koliform <i>Salmonella</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i> Kapang dan khamir	1 x 10 ⁴ koloni/g 10/g * negatif / 25 g 1 x 10 ² koloni/g 2 x 10 ² koloni/g
6	Krim nabati bubuk	ALT (30°C, 72 jam) APM Koliform <i>Salmonella</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i>	5x10 ⁴ koloni/g 10/g * negatif/25 g 1 x 10 ² koloni/g
7	Krim pasteurisasi	ALT (30°C, 72 jam) APM Koliform <i>Salmonella</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	5x10 ⁴ koloni/g 10 /g * negatif/25 g 1 x 10 ² koloni/g negatif/25 g
8	Susu bubuk dan susu skim bubuk	ALT (30°C, 72 jam) APM Koliform	5x10 ⁴ koloni/g 10/g *

* Jika pengujian *Enterobacteriaceae* menunjukkan hasil negatif per 2x1 gram maka tidak diperlukan pengujian koliform.



BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN
REPUBLIK INDONESIA

No.	Jenis makanan	Jenis cemaran mikroba	Batas maksimum
64	Ikan dan produk perikanan termasuk moluska, krustase dan ekinodermata yang dikukus atau rebus dan atau goreng	ALT (30°C, 72 jam)	5x10 ⁵ koloni/g
		APM <i>Escherichia coli</i>	<3/g
		<i>Salmonella sp</i>	negatif/25 g
		<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ³ koloni/g
		<i>Vibrio cholerae</i>	negatif/25g
65	Ikan olahan yang diasap dengan atau tanpa garam	ALT (30°C, 72 jam)	5x10 ⁵ koloni/g
		APM <i>Escherichia coli</i>	<3/g
		<i>Salmonella sp</i>	negatif/25 g
		<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ³ koloni/g
		Kapang	<1x10 ² koloni/g
66	Ikan olahan yang dikeringkan dengan atau tanpa garam	ALT (30°C, 72 jam)	1x10 ⁵ koloni/g
		APM <i>Escherichia coli</i>	<3/g
		<i>Salmonella sp</i>	negatif/25 g
		<i>Vibrio cholerae</i>	negatif/25g
		APM <i>Escherichia coli</i>	< 3/g
67	Ikan olahan yang difermentasi dengan atau tanpa garam	<i>Salmonella sp</i>	negatif/25g
		<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ³ koloni/g
		<i>Vibrio cholerae</i>	negatif/25g
		ALT aerob termofilik (30°C, 72 jam)	<1x10 ¹ koloni/g
		ALT anaerob (30°C, 72 jam)	<1x10 ¹ koloni/g
68	Ikan dan produk perikanan awet, meliputi ikan dan produk perikanan yang dikalengkan atau difermentasi, termasuk moluska, krustase dan ekinodermata	<i>Clostridium sp</i>	negatif/g
		ALT (30°C, 72 jam)	5x10 ⁴ koloni/g
		APM Koliform	50/g
		<i>Salmonella sp.</i>	negatif/25g
		<i>Staphylococcus aureus</i>	negatif/g
69	Telur dan produk-produk telur	<i>Salmonella sp.</i>	negatif/25g
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<1x10 ¹ koloni/g
		ALT (30°C, 72 jam)	1x10 ⁴ koloni/g
		APM Koliform	< 3/g
		<i>Salmonella sp.</i>	negatif/25g
70	Telur asin	<i>Staphylococcus aureus</i>	negatif/25g
		ALT (30°C, 72 jam)	1x10 ⁴ koloni/g
		APM Koliform	< 3/g
		<i>Salmonella sp.</i>	negatif/25g
		<i>Staphylococcus aureus</i>	negatif/g
Pemanis, termasuk madu			
72	Pemanis selain madu	ALT (30°C, 72 jam)	3x10 ³ koloni/g
		APM Koliform	<3 /g
		kapang dan khamir	1x10 ² koloni/g
73	Madu	ALT	<5x10 ³ koloni/g
		APM Koliform	< 3 /g
		kapang dan khamir	<1x10 ¹ koloni/g
Garam, rempah, sup, saus, salad, produk protein			
74	Herba dan rempah-rempah	ALT (30°C, 72 jam)	1x10 ⁵ koloni/g
		Koliform	1x10 ² koloni/g
		APM <i>Escherichia coli</i>	<3/g