

PENGARUH SUHU DAN KELEMBABAN TERHADAP PERTUMBUHAN *Fusarium verticillioides* BIO 957 DAN PRODUKSI FUMONISIN B1

The Effect of Temperature and Humidity on the Growth of *Fusarium verticillioides* Bio 957 and Fumonisin B1 Productions

Dwi Rahayu¹, Winiati Pudji Rahayu^{2,3}, Hanifah Nuryani Lioe², Dian Herawati^{2,3}, Wisnu Broto⁴, Santi Ambarwati⁵

¹Program Studi Ilmu Pangan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

³Southeast Asian Food and Agriculture Science and Technology Center, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

⁴Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 12 Bogor 16114

⁵South East Asian Minister of Education Organization Biologi Tropika, Jl. Raya Tajur Km.6 Bogor
Email: wini_a@hotmail.com

ABSTRAK

Fusarium verticillioides adalah spesies *Fusarium* yang dominan dalam memproduksi fumonisin pada produk-produk pertanian. Fumonisin B1 (FB1) merupakan fumonisin yang paling banyak ditemukan di alam dan paling toksik dibandingkan jenis fumonisin lainnya. Faktor ekstrinsik utama yang mempengaruhi pertumbuhan *F. verticillioides* dan produksi FB1 adalah suhu dan kelembaban. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh suhu dan kelembaban terhadap pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 dan produksi FB1 pada media jagung dan kedelai. Jagung dan kedelai yang telah diinokulasi dengan suspensi *F. verticillioides* Bio 957 diinkubasi pada suhu 20, 30 dan 40 °C dengan kelembaban 70, 80 dan 90% selama 14 hari. Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan penimbangan massa sel dan analisis konsentrasi FB1 dilakukan dengan HPLC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada jagung dan kedelai paling tinggi terjadi pada suhu 30 °C dan kelembaban 90%, berat massa selnya yaitu 904,5 dan 885,5 mg per 20 g masing-masing jagung dan kedelai. Konsentrasi FB1 paling tinggi pada jagung dan kedelai masing-masing yaitu 374 dan 67 ppb, pengamatan pada suhu 30 °C pada jagung dan 20 °C pada kedelai, keduanya pada kelembaban yang sama (90%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa *F. verticillioides* Bio 957 mampu tumbuh dengan baik dan menghasilkan konsentrasi FB1 paling tinggi pada jagung dan kedelai pada suhu 20 dan 30 °C dengan kelembaban 90%. Pada suhu 40 °C dengan kelembaban 70, 80 dan 90%, *Fusarium verticillioides* Bio 957 tidak menunjukkan adanya pertumbuhan, sehingga pembentukan FB1 dapat dihindari.

Kata kunci: Fumonisin B1, *Fusarium verticillioides* Bio 957, kelembaban, suhu

ABSTRACT

Fusarium verticillioides was the predominant *Fusarium* species in producing fumonisin on agricultural products. Fumonisin B1 (FB1) is the most abundant fumonisin in nature and the most toxic than other fumonisin. The main factors affecting the growth of *F. verticillioides* and production of fumonisin are temperature and humidity. This research aimed to assess the effect of changes in temperature and humidity on the growth of *F. verticillioides* and FB1 production on maize and soybeans medium. Maize and soybeans that have inoculated with suspension *F. verticillioides* Bio 957 were incubated at 20, 30 and 40 °C with 70, 80 and 90% of humidity for 14 days. Observations of growth made by weighing the cells mass and analysis of FB1 production performed by HPLC. The results showed that the highest growth of *F. verticillioides* Bio 957 in maize and soybeans was occurred at temperature 30 °C and 90% of humidity, the cell mass weights were 904,5 and 885,5 mg per 20 g of maize and soybeans respectively. The highest concentration of FB1 in maize and soybeans were 374 and 67 ppb respectively, observed at temperature 30 °C for maize and 20 °C for soybeans, both at same humidity (90%). The results showed that *F. verticillioides* Bio 957 was able to grow well and produced the highest concentrations of FB1 in maize and soybeans at a temperature of 20 and 30 °C with 90% of humidity. At a temperature of 40 °C with 70, 80 and 90% of humidity, the growth of *Fusarium verticillioides* Bio 957 was not observed, therefore FB1 formation was avoided.

Keywords: Fumonisin B1, *Fusarium verticillioides* Bio 957, humidity, temperature

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis dengan suhu dan kelembaban yang tinggi. Kondisi ini sangat mendukung pertumbuhan kapang toksigenik penghasil mikotoksin. Kapang penghasil mikotoksin seperti *Fusarium* sp banyak ditemukan pada komoditas pertanian di Indonesia seperti sereal (jagung, gandum, sorgum dan beras) dan kacang-kacangan (kacang tanah dan kedelai) yang digunakan sebagai bahan pangan dan pakan. Mikotoksin yang dihasilkan oleh *Fusarium* sp sebagai metabolit sekunder, diantaranya adalah fumonisin (Leslie dan Summerell, 2006). Fumonisin merupakan salah satu dari 5 mikotoksin yang mendapat perhatian dunia, karena dampaknya terhadap kesehatan manusia dan hewan serta perdagangan internasional. FAO telah mengestimasi bahwa lebih dari 25% hasil pangan rusak per-tahun akibat kontaminasi mikotoksin, dimana *Fusarium* sp berkontribusi cukup tinggi (FAO, 2004). Oleh karena itu, beberapa negara di dunia telah menentukan batas maksimum residu (BMR) fumonisin pada produk pertanian dan hasil olahannya, seperti SNI menentukan batas ambang fumonisin untuk jagung dan produk olahan jagung adalah 1000 - 2000 ppm (SNI, 2009).

IARC (2002) mengklasifikasikan FB1 sebagai karsinogen golongan 2B, yaitu senyawa yang dapat menyebabkan kanker pada manusia. Berbagai penyakit seperti kanker esofagus dan kerusakan ginjal yang dialami penduduk seperti di Afrika Selatan (William dkk., 2010) serta *neural tube diseases* (NTD) di sepanjang perbatasan Texas-Meksiko (Missmer dkk., 2006) dilaporkan berkaitan erat dengan konsumsi bahan pangan yang terkontaminasi FB1. Sementara itu, fumonisin juga menyebabkan *leukoencephalomalacia* (ELEM) pada kuda dan toksisitas pada kardiovaskuler kuda dan babi (Marasas dkk., 2008) serta penurunan kekebalan pada ayam (Keck dan Bodine, 2006). Penelitian terbaru menghubungkan keterkaitan fumonisin di Afrika dengan peningkatan kerentanan terhadap HIV (William dkk., 2010).

Faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan *F. verticillioides* dan kontaminasi fumonisin adalah suhu dan kelembaban. Pada jagung dan kedelai, produksi fumonisin pada daerah dataran rendah, biasanya lebih besar dibandingkan dengan daerah dataran tinggi. Hal ini disebabkan karena pada dataran rendah kondisi suhu dan kelembaban relatif lebih tinggi dari pada dataran tinggi (Bush dkk., 2004).

Saat ini belum diketahui sejauh mana pertumbuhan kapang toksigenik *F. verticillioides* Bio 957 dan produksi fumonisin B1 yang dihasilkan akibat faktor lingkungan yaitu kondisi suhu dan kelembaban. Pengaruh suhu dan kelembaban terhadap pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 dan produksi FB1 pada media jagung dan kedelai diteliti agar dapat dikembangkan cara pengendaliannya. Penelitian

ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh suhu dan kelembaban terhadap ketahanan hidup *F. verticillioides* Bio 957 dan produksi FB1 yang dihasilkan pada jagung dan kedelai.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain adalah HPLC Agilent 1100 Series (Agilent Technologies, Amerika Serikat) yang dilengkapi dengan detektor fluoresen, kolom Zorbax C18 4,6 mm x 150 mm dengan ukuran partikel 5 µm (Agilent Technologies), inkubator dengan suhu 20, 30 dan 40 °C, oven, mini desikator, blender, kertas saring *Whatman* (Vicom), mikro pipet, jangka sorong dan timbangan digital. Selain itu juga digunakan berbagai jenis alat-alat gelas (cawan petri, labu ukur, corong pemisah, dan lainnya).

Bahan utama yang digunakan adalah kapang toksigenik penghasil fumonisin B1 yang digunakan yaitu *F. verticillioides* Bio 957 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi SEAMEO-BIOTROP Bogor, kapang ini merupakan isolat lokal Indonesia dari bahan sorgum. Bahan pangan yang digunakan adalah jagung (varietas Bisi 1) dan kedelai (varietas Willis) yang diperoleh dari daerah Kediri Jawa Timur. Media *czapex dox agar* (CDA) (Oxoid, Inggris) sebagai media pertumbuhan kapang. Bahan untuk pengaturan kelembaban adalah garam teknis yaitu amonium klorida (NH₄Cl), barium klorida (BaCl₂), natrium nitrat (NaNO₃), amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄) dan kalium nitrat (KNO₃) diperoleh dari toko bahan kimia di Bogor dan garam kualitas p.a (*pro analysis*) yaitu K₂SO₄ dan KNO₃ (Merck, Jerman). Bahan untuk analisis fumonisin adalah standar FB1 (Vicom, Amerika Serikat), kolom IAC FumoTest™ WB (Vicom), metanol (Merck), asetonitril (Merck), *reagent o-phthalaldehyde* (OPA) (Vicom), *phosphat buffered saline* (PBS) (Vicom), gas nitrogen (*high purity*), *aquabidest* dan *LC mobile phase*.

Persiapan Spora Kapang *F. verticillioides* Bio 957

Metode perlakuan yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada metode Kusumaningtyas (2006) dengan modifikasi jenis media. Kapang *F. verticillioides* BIO 957 dalam media PDA pada tabung reaksi yang berumur 7 hari, sporanya diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasi pada media CDA miring dan diinkubasi pada suhu 29–31°C selama 7 hari. Kemudian disimpan dalam *refrigerator* untuk kultur stok. Konsentrasi kapang *F. verticillioides* Bio 957 yang digunakan pada penelitian adalah 10⁶ CFU/mL.

Pengaturan Kelembaban

Metode pengaturan kelembaban yang digunakan pada percobaan ini mengacu pada metode Hinojo dkk. (2005) dengan modifikasi jenis garam. Garam yang telah ditimbang dengan berat tertentu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL dan dilarutkan dalam sejumlah air sampai jenuh, lalu disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Sementara itu desikator disterilkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%, setelah itu diisi larutan garam jenuh steril. Jenis dan jumlah garam per 100 mL air untuk pengaturan kelembaban dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis dan jumlah garam per 100 mL air

Suhu (°C)	Kelembaban (%)	Jenis garam	Jumlah garam (g)
20	70	Amonium klorida (NH ₄ Cl) – Teknis	120
	80	Barium klorida (BaCl ₂) – Teknis	140
	90	Kalium sulfat (K ₂ SO ₄) – Pro Analysis	100
30	70	Amonium sulfat (NH ₄) ₂ SO ₄ – Teknis	93
	80	Teknis	110
	90	Kalium nitrat (KNO ₃) – Teknis Kalium nitrat (KNO ₃) – Pro Analysis	200
40	70	Natrium nitrat (NaNO ₃) – Teknis	70
	80	Kalium nitrat (KNO ₃) – Teknis	80
	90	Kalium sulfat (K ₂ SO ₄) – Pro Analysis	90

Iradiasi Media Pangan

Metode iradiasi yang digunakan pada percobaan ini mengacu pada metode Aziz dkk. (2007) dengan modifikasi jumlah dosis. Jagung dan kedelai yang sudah dikemas disterilisasi dengan cara iradiasi menggunakan sinar gamma yang dihasilkan oleh Cobalt 60 pada dosis 25 kGy untuk menghilangkan semua jenis mikroba. Iradiasi dilakukan Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta. Setelah itu jagung dan kedelai diukur kadar airnya dengan metode AOAC (2005).

Pengaruh Suhu dan Kelembaban terhadap Pertumbuhan *Fusarium verticillioides* Bio 957 pada Medium CDA

Metode perlakuan yang digunakan pada percobaan ini mengacu pada metode Kokkonen dkk. (2010) dengan modifikasi jenis media padat, suhu dan kelembaban yang diatur. Kapang *F. verticillioides* Bio 957 sebanyak satu ose diinokulasi di tengah-tengah media cawan agar CDA, kemudian cawan diinkubasi pada suhu 20, 30 dan 40 °C dengan kelembaban 70, 80 dan 90%. Inkubasi dilakukan hingga miselium kapang memenuhi permukaan agar pada cawan (± 8 hari). Pertumbuhan kapang diamati setiap 48 jam

dengan mengukur diameter koloni yang tumbuh pada media CDA menggunakan jangka sorong. Perlakuan dilakukan sebanyak dua ulangan.

Pengaruh Suhu dan Kelembaban terhadap Pertumbuhan *Fusarium verticillioides* Bio 957 dan Produksi Fumonisin B1 pada Jagung dan Kedelai

Metode perlakuan yang digunakan pada percobaan ini mengacu pada metode Kokkonen dkk. (2010) dengan modifikasi jenis media pangan, jumlah kapang yang diinokulasi, suhu dan kelembaban yang diatur. Media jagung dan kedelai masing-masing sebanyak 20 g dimasukkan kedalam cawan petri dan diinokulasi dengan 4 mL suspensi kapang *F. verticillioides* Bio 957 (10⁶ CFU/mL), kemudian diinkubasi selama 14 hari pada suhu 20, 30 dan 40 °C dengan kelembaban 70, 80 dan 90%. Perlakuan dilakukan dua ulangan. Pengukuran pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada jagung dan kedelai dilakukan dengan menimbang berat massa sel menggunakan timbangan digital.

Analisis Berat Massa Sel

Berat Massa Sel Awal =

Berat Massa Sel Awal dalam Cawan – (Berat Cawan kosong + 1 mL Suspensi Kapang)

Berat Massa Sel Akhir =

Berat Massa Sel Akhir dalam Cawan – (Berat Cawan kosong + 1 mL Suspensi Kapang yang telah diinkubasi selama 14 hari)

Jumlah Massa Sel = Berat Massa Sel Akhir – Berat Massa Sel Awal

Analisis Kadar Fumonisin B1

Metode analisis yang digunakan pada percobaan ini mengacu pada metode AOAC (2012) dengan modifikasi pada saat pembuatan konsentrasi larutan standar yang diatur kembali. Metode analisis fumonisin terdiri dari pembuatan kurva standar fumonisin, preparasi sampel dan analisisnya menggunakan HPLC Agilent 1100 series yang dilengkapi dengan detektor fluoresen.

Konsentrasi larutan standar stok FB1 adalah 10.000 ppb. Larutan standar kerja FB1 dibuat konsentrasi 10.000, 5.000, 2.500, 1.000, 500 dan 250 ppb dalam asetonitril:air (50:50 v/v). Larutan standar 50 µL dimasukkan ke dalam tabung vial 1 mL, lalu larutan tersebut diderivatisasi dengan menambahkan reagen *o*-Phthalaldehyde (OPA) sebanyak 50 µL. Larutan dihomogenkan selama 30 detik, kemudian 40 µL diinjeksikan ke dalam HPLC tepat setelah 3 menit. Kondisi HPLC sebagai berikut ini:

Kolom : C18 (150 x 4,6 mm id, 5 µm)

Fase gerak : Metanol-0,1M Sodium dihidrogenfosfat (NaH₂PO₄) (77+23 v/v) pH 3,4 dengan asam fosfat (H₃PO₄)

Laju alir : 1 mL/min
 Suhu : 29-31 °C
 Sampel loop : 20 µL
 Detektor : Fluoresen dengan panjang gelombang eksitasi 335 nm dan emisi 440 nm

Sejumlah 20,0±0,1 g sampel diblender dengan 50 mL metanol-asetonitril-air (25:25:50 v/v/v). Setelah itu disaring dengan kertas *fluted filter* (Whatman No.14), kemudian 10 mL filtrat dikumpulkan dalam erlenmeyer 250 mL yang bersih. Filtrat diencerkan dengan 40 mL larutan PBS dan disaring dengan kertas *microfiber filter* (Whatman GF/A). Sejumlah 10 mL (setara dengan 1 g sampel) filtrat dipipet dan dialirkan melalui kolom afinitas FumoniTest™ dengan kecepatan sekitar 1–2 tetes/detik dan eluatnya dibuang. Kolom dicuci dengan cara mengalirkan 10 mL larutan PBS melalui kolom dengan kecepatan sekitar 1–2 tetes/detik. FB1 dalam kolom afinitas dielusi dengan 1,5 mL metanol dengan kecepatan 1 tetes/detik. Eluat diuapkan dengan nitrogen pada suhu ruang (29–31 °C) hingga kering. Ekstrak kering dilarutkan kembali dalam 200 µL metanol: *aquabidest* (50:50 v/v). *Aliquots* 50 µL dari ekstrak dipindahkan ke dalam tabung vial 1 mL, kemudian ditambahkan reagen OPA sebanyak 50 µL dan dihomogenkan selama 30 detik. Sebanyak 40 µL larutan diinjeksi ke dalam HPLC tepat setelah 3 menit. Konsentrasi FB1 dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

Konsentrasi FB1 (µg/g) =

$$\frac{\text{Konsentrasi Kurva Standar } (\mu\text{g/mL}) \times \text{Vol. Larutan Akhir (mL)} \times \text{FP}}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Ket. : Volum Larutan Akhir = 0,2 mL

FP (Faktor Pengenceran) = 25

Rancangan Penelitian dan Analisis Statistik

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua ulangan untuk pertumbuhan koloni dan massa sel serta RAL untuk konsentrasi FB1 (Aunuddin, 2005). Faktor perlakuan yaitu suhu (T); T₁ = 20 °C; T₂ = 30 °C; T₃ = 40 °C; dan kelembaban (H); H₁ = 70%; H₂ = 80%; H₃ = 90%.

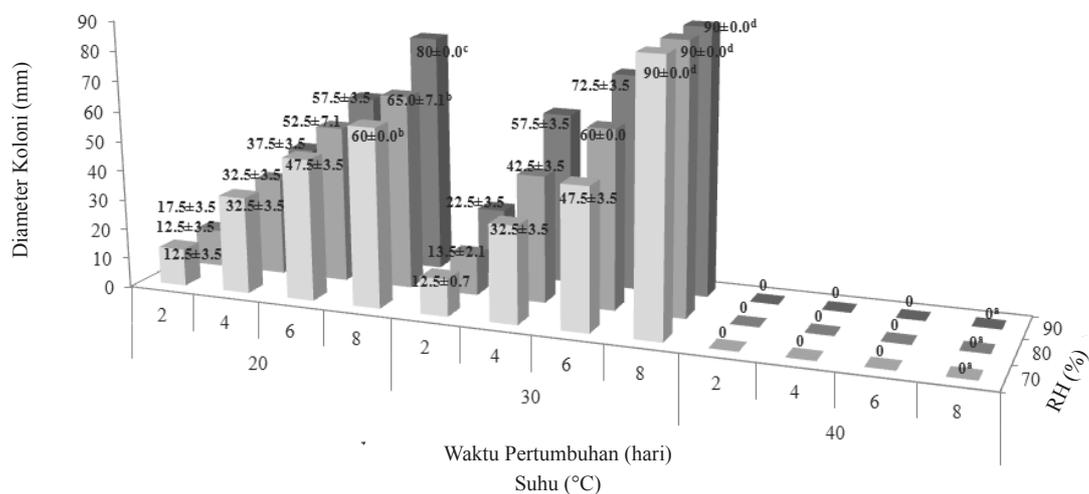
Analisis statistik menggunakan SPSS untuk windows (versi 16,0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Semua data dalam bentuk nilai rata-rata ± Standar Deviasi (SD). Hasil analisis yang menunjukkan nilai p < 0,05 (signifikan) pada perlakuan akan dilakukan uji lanjut menggunakan analisis varian (ANOVA) yaitu uji Duncan's untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang nyata pada perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Suhu dan Kelembaban terhadap Pertumbuhan *Fusarium verticillioides* Bio 957 pada Medium CDA

Pada penelitian ini dilakukan pengujian pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada medium CDA sebagai *screening* awal sebelum dilakukannya pengujian pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada media pangan. Medium CDA mengandung 20% sakarosa dan dapat digunakan untuk membedakan kultur dan karakteristik mikrobiologi *F. verticillioides* dengan *Fusarium* spp. Perbedaan yang paling utama adalah panjang diameter dan warna koloni (Ismail dkk., 2013).

Pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada medium CDA diakhir waktu inkubasi pada suhu 20, 30 dan 40 °C dengan kelembaban 70, 80 dan 90% dapat dilihat pada Gambar



Gambar 1. Pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada medium CDA dengan waktu inkubasi 8 hari pada kondisi suhu 20, 30 dan 40 °C dan kelembaban 70, 80 dan 90%

Angka pada grafik dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan (p < 0,05)

1. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan suhu dan kelembaban berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan koloni *F. verticillioides* Bio 957 ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni *F. verticillioides* Bio 957 yang diinkubasi pada suhu 30 °C memiliki diameter 90 mm, lebih panjang dari pada diameter pada perlakuan suhu 20 dan 40 °C. Pada suhu 20 °C pertumbuhan koloni mempunyai diameter 60–80 mm. Pertumbuhan koloni tersebut lebih rendah dibandingkan pertumbuhan koloni pada suhu 30 °C, akan tetapi apabila dibandingkan dengan pertumbuhan koloni pada suhu 40 °C, maka diameter koloni yang diamati pada suhu 20 °C lebih panjang daripada yang diamati pada suhu 40 °C. *Fusarium verticillioides* Bio 957 dapat melakukan metabolisme pada suhu 20 dan 30 °C, namun pada suhu 40 °C *F. verticillioides* Bio 957 tidak dapat melakukan metabolisme, karena suhu tersebut lebih tinggi dari pada suhu yang dapat ditoleransi oleh *F. verticillioides* (Madigan dkk., 2009).

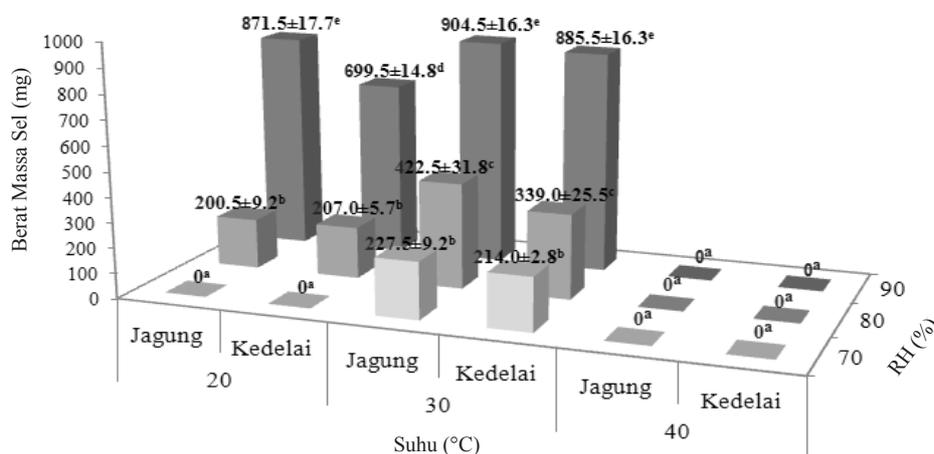
Romsyah (2007) menyatakan bahwa *F. verticillioides* tumbuh pada suhu optimum 22,5–27,5 °C dengan suhu maksimum 32–37 °C. De la Campa dkk. (2005) juga menjelaskan pada suhu antara 15 dan 34 °C merupakan suhu pertumbuhan optimum *F. verticillioides*. Pertumbuhan koloni *F. verticillioides* Bio 957 pada kelembaban 90% memiliki diameter 80-90 mm, lebih panjang daripada diameter pada perlakuan kelembaban 70 dan 80%. Hal tersebut karena semakin tinggi kelembaban maka akan meningkatkan kadar air dalam protoplasma sehingga metabolisme dapat terjadi lebih cepat (Madigan dkk., 2009). Pertumbuhan terbaik dari perlakuan yang diberikan adalah perlakuan pada suhu 30 °C dengan kelembaban 90%. Hasil tersebut didukung oleh Maiorano dkk. (2009) yang menyatakan bahwa sporulasi,

germinasi dan pertumbuhan *F. verticillioides* optimum pada 25–30 °C dan kelembaban yang tinggi.

Pengaruh Suhu dan Kelembaban terhadap Pertumbuhan *Fusarium verticillioides* Bio 957 pada Jagung dan Kedelai

Pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada media jagung dan kedelai diakhir waktu inkubasi pada suhu 20, 30 dan 40 °C dengan kelembaban 70, 80 dan 90% dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan suhu dan kelembaban berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan massa sel *F. verticillioides* Bio 957 pada jagung dan kedelai ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada jagung dan kedelai yang diamati pada suhu 20 dan 30 °C memiliki berat massa sel antara 200,5–904,5 mg, lebih tinggi dari pada perlakuan pada suhu 40 °C. Pada suhu 40 °C baik pada jagung atau pun kedelai *F. verticillioides* Bio 957 tidak dapat tumbuh, hal ini karena suhu yang lebih tinggi menyebabkan terjadinya penurunan kadar air bahan pangan dan denaturasi protein yang diperlukan kapang untuk melakukan pertumbuhan sehingga kapang tidak dapat tumbuh (Madigan dkk., 2009).

De la Campa dkk. (2005) menjelaskan bahwa suhu antara 15 dan 34 °C merupakan suhu optimum pertumbuhan *F. verticillioides*. Pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada kelembaban 90% memiliki berat massa sel antara 699,5–904,5 mg, lebih tinggi dibandingkan pada kelembaban 70 dan 80%. Hal ini disebabkan karena kelembaban yang tinggi akan meningkatkan kadar air bahan pangan sehingga memudahkan penyerapan nutrisi dan mendukung pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 (Madigan dkk., 2009). Pertumbuhan massa sel terbaik dari perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini adalah pada suhu 20 dan



Gambar 2. Pertumbuhan *F. verticillioides* Bio 957 pada media jagung dan kedelai pada akhir inkubasi (14 hari) pada kondisi suhu 20, 30, dan 40 °C dan kelembaban 70, 80 dan 90%
 Angka pada grafik dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

30 °C dengan kelembaban 90%, yaitu antara 699,5–904,5 mg per 20 g jagung atau kedelai. Pada suhu 20 dan 30 °C berat massa sel *F. verticilliodes* Bio 957 pada jagung lebih tinggi dari pada kedelai. Hal tersebut karena di dalam kedelai terdapat senyawa asam fitat yang diduga dapat menghambat pertumbuhan *F. verticilliodes*.

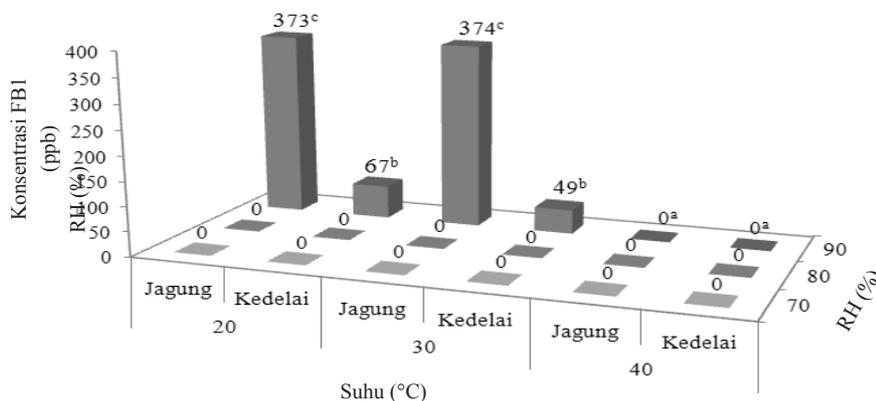
Pengaruh Suhu dan Kelembaban terhadap Produksi FB1 pada Jagung dan Kedelai

Hasil analisis kandungan FB1 pada media jagung dan kedelai diakhir waktu inkubasi 14 hari pada suhu 20, 30 dan 40 °C dan kelembaban 70, 80 dan 90% dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan suhu dan kelembaban berpengaruh nyata terhadap produksi FB1 dari *F. verticilliodes* Bio 957 pada jagung dan kedelai ($p < 0,05$). Pada kedelai di suhu 20 dan 30 °C dengan kelembaban 70 dan 80%, massa sel *F. verticilliodes* Bio 957 berkisar antara 207–339 mg serta pada jagung di suhu 30 °C dengan kelembaban 70% dengan massa sel *F. verticilliodes* Bio 957 sebesar 227,5 mg tidak terdeteksi adanya FB1. Hal tersebut membuktikan bahwa adanya massa sel *F. verticilliodes* Bio 957 tidak selalu menghasilkan FB1. Hasil tersebut didukung oleh Chu dan Li (1994) yang menyatakan bahwa jagung dengan jumlah *Fusarium* yang tinggi, belum tentu mengandung fumonisin dengan konsentrasi tinggi. Sebaliknya kandungan fumonisin juga pernah terdeteksi pada sampel jagung di India yang baru saja dipanen dan masih segar (Sreenivasa, 2012). Hasil tersebut juga sesuai dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh Abbas dkk. (2012) yang menemukan bahwa meskipun tanaman kedelai dapat terinfeksi oleh beberapa spesies *Fusarium*, namun bijinya relatif lebih tahan terhadap kontaminasi fumonisin. Hal tersebut karena di dalam kedelai terdapat senyawa asam fitat yang diduga dapat menghambat pertumbuhan *F.*

verticilliodes. Selain itu juga disebabkan karena kadar air jagung lebih tinggi dari pada kadar air kedelai.

Sampel yang diinokulasikan dengan *F. verticilliodes* Bio 957 pada jagung dan kedelai mengandung FB1 dengan konsentrasi berkisar antara 373–374 dan 49–67 ppb. Konsentrasi FB1 terbanyak diproduksi dalam media jagung pada suhu 20 dan 30 °C dengan kelembaban 90% yaitu 374 dan 373 ppb. Hal tersebut diduga karena kadar air jagung pada suhu 20 dan 30 °C dengan kelembaban 90% lebih tinggi dibandingkan kadar air kedelai. Christensen dkk. (1974) menyatakan bahwa kadar air (% b.b) jagung dan kedelai pada kelembaban relatif 90% masing-masing yaitu 19 dan 18,5%. Tingginya kadar air jagung dibandingkan kedelai diduga karena luas permukaan biji jagung lebih besar dibandingkan dengan biji kedelai, sehingga jagung dapat lebih banyak menyerap air dari lingkungan dibandingkan dengan kedelai. Kadar air yang tinggi pada jagung menyebabkan proses metabolisme berjalan lebih cepat dan produksi FB1 yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan produksi FB1 pada kedelai.

Pada suhu 40 °C dengan kelembaban 70, 80 dan 90% karena tidak ada pertumbuhan massa sel *F. verticilliodes* Bio 957 baik pada jagung maupun kedelai, maka tidak dilakukan analisis kandungan FB1. Hasil tersebut didukung oleh Marin dkk. (2005) yang melaporkan bahwa pertumbuhan kapang *F. verticilliodes* dan produksi fumonisin yang optimum terjadi pada suhu 25 °C. Samapundo dkk. (2005) juga menyatakan bahwa suhu optimum produksi FB1 oleh *F. verticilliodes* berkisar antara 15–25 °C dengan kelembaban 86–97,5%. Beberapa Peneliti juga menyatakan bahwa FB1 yang dihasilkan *F. verticilliodes* pada media jagung yang diinkubasi pada suhu 20–40 °C dengan kelembaban 50–98% memiliki konsentrasi yang lebih tinggi (22,83–143,9 µg/g) dibandingkan bahan pangan lainnya seperti beras (3,84 µg/g)



Gambar 3. Produksi FB1 pada media jagung dan kedelai pada akhir inkubasi (14 hari) pada kondisi suhu 20, 30, dan 40 °C dan kelembaban 70, 80 dan 90%
 Angka pada grafik dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

dan sorgum (14,51 µg/g) (Marin dkk., 1998; Hinojo dkk., 2005; Sreenivasa dkk., 2013). Kondisi tersebut sangat sesuai dengan iklim di Indonesia.

KESIMPULAN

Fusarium verticillioides Bio 957 mampu tumbuh baik pada media CDA dan jagung pada suhu 20 dan 30 °C dengan kelembaban 90% dan tidak dapat tumbuh pada suhu 40 °C dengan kelembaban 70, 80 dan 90%. Fumonisin B1 terbentuk dengan baik pada suhu 20 dan 30 °C dengan kelembaban 90%. Pembentukan konsentrasi FB1 pada jagung yang dikontaminasi lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai yang dikontaminasi dengan jumlah kapang yang sama. Jumlah massa sel *F. verticillioides* Bio 957 pada jagung dan kedelai yang tinggi tidak selalu menghasilkan konsentrasi FB1 yang tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh program Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) tahun 2013 dengan nomor kontrak 692/LB.620/I.1/2/2013 atas nama Prof. Dr. Winiati P. Rahayu.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, H.K., Bellaloui, N., Zablotowicz, R.M., Bruns, H.A. dan Gillen, A.M. (2012). Corn-soybean rotation system in the Misisipi delta: Implications on mycotoxin contaminatoin and soil populations of *Aspergillus flavus*. *International Journal of Agronomy* 2012 (ID 935463): 1-7.
- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC) (2005). *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemyst*. The Association of Official Analytical of Chemyst Inc., Arlington (US).
- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). (2012). *Official Methods of Analysis. Analysis fumonisin in corn No.2001.04, hal 58-61*. Trucksess, M.W., (ed) chapter 49. The Association of Official Analytical of Chemyst Inc., Arlington (US).
- Aunuddin (2005). *Statistika: Rancangan dan Analisis Data*. IPB Pr, Bogor.
- Aziz, N.H., El-Far, F.M., Shahin, A.A.M. dan Roushy, S.M. (2005). Control of *Fusarium* moulds and fumonisin B1 in seeds by gamma irradiation. *Journal of Food Control* 18 (2007): 1337-1342.
- Bush, M.B., Silman, M.R. dan Urrego, D.H. (2004). 48.000 years of climate and forest change in a biodiversity hot spot. *Journal of Science* 303: 827-829.
- Chu, F.S. dan Li, G.Y. (1994). Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the people's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. *Journal Applied and Environmental Microbiology* 60: 847-852.
- De la Campa, R., Hooker, D.C., Miller, J.D., Schaafsma, A.W. dan Hammond, B.G. (2005). Modeling effects of envirotment, insect damage, and Bt genotypes on fumonisin accumulation in maize in Argentina and the Philippines. *Journal Mycopathologia* 159: 539-552.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2004). *Animal Production And Health, Protein Sources for The Animal Feed Industry*. FAO, Rome, Italy.
- Hinojo, M.J., Medina, A., Algarra, F.M.V., Adelantado, J.V.G., Jimenez, M. dan Mateo, R. (2005). Fumonisin production in rice cultures of *Fusarium verticillioides* under differrent incubation conditions using an optimized analytical methode. *International Journal of Food Microbiology* 23(2006): 119-127.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2002). Traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene, and styrene. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Hal. 82-171. IARC Press, Lyon, France.
- Ismail, M.A., Abdel-Hafez, S.I.I., Hussein, N.A. dan Abdel-Hameed, N.A. (2013). Contribution to physiological and biochemical diagnostics of *Fusarium* taxa commonly isolated in Egypt. *Journal of Czech Mycology* 65(1): 133-150.
- Keck, B.B. dan Bodine, A.B. (2006). The effect of fumonisin B1 on viability and mitogenic response of avian immune cells. *Journal of Poultry Science* 85: 1020-1024.
- Kokkonen, M., Ojala, L., Parikka, P. dan Jestoi, M. (2010). Mycotoxin production of selected *Fusarium* species at different culture conditions. *International Journal of Food Microbiology* 143: 17-25.
- Kusumaningtyas, E. (2006). Isolat lokal *Saccharomyces cerevisiae* sebagai biokompetitor *Aspergillus falvus*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 11(4): 325-330.
- Leslie, J.F. dan Summerell, B.A. (2006). *Fusarium* laboratory workshops-a recent history. *Journal of Mycotoxin Research* 22: 73-74.

- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. dan Clark, D.P. (2009). *Brock Biology of Microorganisms*. Ed Ke-12. Pearson Benjamin-Cummings, San Francisco.
- Maiorano, A., Reyneri, A., Sacco, D., Magni, A. dan Ramponi, C. (2009). A dynamic risk assessment model (FUMAgain) of fumonisin synthesis by *Fusarium verticillioides* in maize grain in Italy. *Journal of Crop Protection* **28**: 243-256.
- Marasas, W.F., Gelderblom, W.C.A., Shephard, G.S., dan Vismer, H.F. (2008). Mycotoxin: A global problem. *Dalam*: Leslie, J.F., Bandyopadhyay, R. dan Visconti, A. (ed). *Mycotoxins: Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade*. CAB International, Oxfordshire (UK).
- Marin, S., Magan, N., Ramos, A.J. dan Sanchis, V. (2005). Fumonisin producing strains of *Fusarium*: A review of their ecophysiology. *Journal of Food Protection* **67**(8): 1792-1805.
- Missmer, S.A., Suarez, L., Falkner, M., Wang, E., Merrill, A.H.Jr., Rothman, K.J. dan Hendricks, K.A. (2006). Exposure to fumonisins and the occurrence of neural tube defects along the Texas-Mexico border. *Journal of Environmental Health Perspective* **114**: 237-241.
- Romsyah, M. (2007). Mewaspadaai bahaya kontaminasi mikotoksin pada makanan. dc350.4shared.com/doc/msWwAaU9/preview.html. [4 Mei 2013].
- Samapundo, S., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Geeraerd, A.H., Van Impe, J.F. dan Dedeve, J.M. (2005). Predictive modelling of the individual and combined effect of water activity and temperature on the radial growth of *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* on corn. *International Journal of Food Microbiology* **105**: 35-52.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). (2009). Batas maksimum kandungan mikotoksin dalam pangan. SNI 7385-2009: CSS 67.220.20.
- Sreenivasa, M.Y. (2012). Fumonisin-A potential carcinogen is of global concern. *Research Journal of Biotechnology* **7**(4): 1-2.
- William, J.H., Grugg, J.A., Davis, J.W., Wang, J., Jolly, P.E., Ankrah, N., Ellis, W.O., Afriyie-Gyawu, E., Johnson, N.M., Robinson, A.G. dan Phillips, T.D. (2010). HIV and hepatocellular and esophageal carcinomas related to consumption of mycotoxinprone foods in sub-Saharan Africa. *American Journal of Clinical Nutrition* **92**(1): 154-160.