

## KETAHANAN PANAS MIKROBA PERUSAK PUREE MANGGA (*Mangifera indica* L)

Ermi Sukasih<sup>1</sup>, Aman Wirakartakusumah<sup>2</sup>, Ratih Dewanti Hariyadi<sup>2</sup>, Setyadjit<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian  
<sup>2</sup> Program Studi Ilmu Pangan Fakultas Pasca Sarjana IPB

### ABSTRAK

Selama ini suhu dan waktu pasteurisasi yang digunakan masih mengacu pada produk lain karena belum ada data tentang suhu dan waktu optimal pasteurisasi *puree* mangga CV. Indramayu sehingga perlu dilakukan penelitian untuk menghitung kecukupan panasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji ketahanan panas mikroba penyebab kerusakan *puree* mangga melalui perhitungan nilai D dan z. Uji ketahanan panas dilakukan dengan metode tabung pada suhu pemanasan 55, 65, 75 dan 85 °C selama 5, 10, 15 dan 20 menit. Dua isolat dominan yang diperoleh dari masing-masing kelompok yaitu isolat bakteri A dan isolat bakteri B, isolat khamir C dan isolat khamir E, isolat kapang G dan isolat kapang H. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri A mempunyai ketahanan panas yang lebih tinggi dari isolat bakteri B, isolat khamir C mempunyai ketahanan panas lebih tinggi dari isolat khamir E, dan isolat kapang H mempunyai ketahanan panas lebih tinggi dari kapang G. Sementara itu mikroba tunggal hasil isolasi mempunyai ketahanan panas lebih rendah daripada populasi mikroba yang secara alami terdapat pada *puree* mangga. Dari uji ketahanan panas diperoleh bahwa mikroba yang paling tahan panas adalah bakteri populasi alami dengan nilai z sebesar 52,91 °C.

Kata kunci: Ketahanan panas mikroba, isolasi, pasteurisasi, *puree* mangga

### ABSTRACT

Optimum time and temperature for pasteurization of mango puree CV. Indramayu is still unavailable, so it requires doing the research on this area. Evaluation of heat resistant microorganism isolated from rotten mango puree was conducted to determine the D and z value. Mango puree was pasteurized at 55, 65, 75 and 85 °C for 5, 10, 15 and 20 minutes. Two predominant isolates of each group are: isolates of bacteria A and B, isolates yeast C and E, isolates mold G and H. The result showed that isolate of bacteria A has higher heat resistant than isolate of bacteria B. Isolate of yeast C has higher heat resistant than isolate of yeast E. Isolate of mold H has higher heat resistant than isolate of mold G. The single microorganism isolate has lower heat resistant than the natural population microorganism in mango puree. The natural population bacteria of mango puree has highest heat resistant with z value of 52.91 °C.

Keywords: Heat resistant microorganism, isolation, pasteurization, mango puree.

### PENDAHULUAN

Potensi dan produktivitas buah mangga (*Mangifera indica* L.) di Indonesia cukup tinggi. Total produksi mangga pada tahun 2002 mencapai 1.402.906 ton (BPS, 2002), sedangkan ekspor buah mangga segar masih rendah yaitu 0,1% dari total produksinya. Hal ini berakibat produksi sangat melimpah pada musim panen khususnya di Cirebon, Jawa Barat. Disisi lain untuk memenuhi kebutuhan industri pengolahan buah Indonesia sampai saat ini masih mengimpor *puree*. Impor *puree* mangga di Indonesia terus meningkat hingga mencapai 60 ton pada tahun 2002.

Dengan latar belakang tersebut, pengolahan mangga menjadi *puree* merupakan salah satu alternatif yang terbaik sekaligus dapat meningkatkan nilai ekonomis buah mangga. *Puree* mangga merupakan bahan baku makanan dan minuman yang lebih tahan disimpan dan mudah didistribusikan dibandingkan dengan buah segarnya. *Puree* mangga sangat dibutuhkan oleh industri makanan dan minuman sebagai bahan baku untuk produk olahan yang memerlukan flavor dan rasa buah alami, dimana akhir-akhir ini masyarakat mulai meninggalkan flavor sintesis. Untuk memperpanjang masa simpan, *puree* mangga perlu dipasteurisasi. Namun demikian setelah pasteurisasi kadang-kadang *puree* mengalami kerusakan karena suhu dan waktu pasteurisasi tidak dilakukan berdasarkan kecukupan panasnya. Kerusakan pada *puree* mangga utamanya disebabkan oleh mikroba yang masih tersisa setelah pasteurisasi.

Untuk mengatasi permasalahan tersebut maka proses pasteurisasi sebaiknya didasarkan pada kecukupan panasnya. Dalam menghitung kecukupan panas diperlukan data mikroba yang paling tahan panas yang dinyatakan dengan nilai *z*. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji ketahanan panas mikroba (nilai *D* dan *z*) yang menyebabkan kerusakan pada *puree* mangga.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium PAU, Institut Pertanian Bogor dan Laboratorium Balai Besar Penelitian Pascapanen Pertanian Pasar Minggu, pada bulan Januari s/d Oktober 2004. Bahan baku yang digunakan adalah buah mangga Indramayu, sedangkan alat pasteurisasi yang digunakan adalah pasteurizer dengan kapasitas 50 kg *puree* mangga.

Tahapan penelitian adalah isolasi mikroba, penentuan kurva pertumbuhan mikroba dan pengujian ketahanan panas mikroba.

### Isolasi Mikroba

#### 1. Isolasi bakteri (Patel, 1994)

Isolasi bakteri dilakukan dengan cara memilih koloni-koloni spesifik yang tumbuh pada medium NA. Koloni-koloni tersebut diambil dengan jarum ose steril, kemudian dilakukan pemurnian isolat bakteri pada agar cawan NA dengan metode goresan kuadran sebanyak 3-5 kali, sampai diperoleh pertumbuhan koloni-koloni yang seragam dan murni. Selanjutnya isolat-isolat tersebut ditumbuhkan pada agar miring NA (37°C selama 2 hari) lalu disimpan dalam lemari pendingin sebagai stok isolat bakteri. Isolat tersebut kemudian diidentifikasi melalui pewarnaan Gram.

#### 2. Isolasi kapang dan khamir (Daulay, 1989)

Sampel diencerkan dengan NaCl 0,85% (pH 7,2) kemudian dimasukkan ke tabung pengencer. Selanjutnya dipersiapkan satu seri pengenceran desimal. Sebanyak 0,1 ml dari pengenceran dipupuk (*plating*) pada media yang steril yang telah dipersiapkan. Dari setiap contoh dipilih tiga tingkat pengenceran yang berurutan untuk dipupuk (*plating*) secara duplo. Media yang digunakan adalah APDA yaitu PDA yang telah

ditambahkan asam tartrat 10% untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 2 hari. Selanjutnya dipilih cawan-cawan petri dengan pertumbuhan koloni yang dominan untuk diisolasi. Kemudian untuk pemurnian dilakukan gores kuadran sebanyak 3-5 kali. Koloni yang sudah murni dipindahkan ke agar miring PDA dan dilakukan pengamatan mikroskopis dengan metode *slide culture* untuk kapang dan pengamatan sel serta *pseudomisetium* untuk khamir. Isolat kapang dan khamir yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin untuk pengujian. Sebelum dilakukan pengujian, setiap isolat yang akan diuji terlebih dulu dipindahkan ke agar miring PDA yang baru dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 2 hari.

### 3. Kurva Pertumbuhan untuk menentukan akhir fase log (LLP)

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni setelah diplating dan diinkubasi pada kisaran waktu bertingkat. Isolat terlebih dahulu dibiakkan dalam medium cair NB untuk bakteri dan diinkubasi selama 24 jam, sedangkan untuk khamir dengan medium PDB dan diinkubasi selama 48 jam. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai dengan  $10^6$  dan diambil sebanyak 100  $\mu$ L lalu dimasukkan dalam 10 ml medium NB (bakteri) dan PDB (khamir). Prosedur yang sama dibuat sebanyak jumlah waktu pengamatan yaitu 16 kali. Pengamatan dilakukan selama 2 hari, dengan selang waktu 2 jam pada hari pertama dan selang 8 jam pada hari kedua. Setiap waktu pengamatan dilakukan plating dengan seri pengenceran berkisar antara  $10^1$  sampai dengan  $10^7$  dan diinkubasi selama 1-2 hari dan selanjutnya dihitung jumlah koloninya. Data jumlah koloni (CFU) di plot dengan waktu pengamatan maka akan diperoleh kurva pertumbuhan.

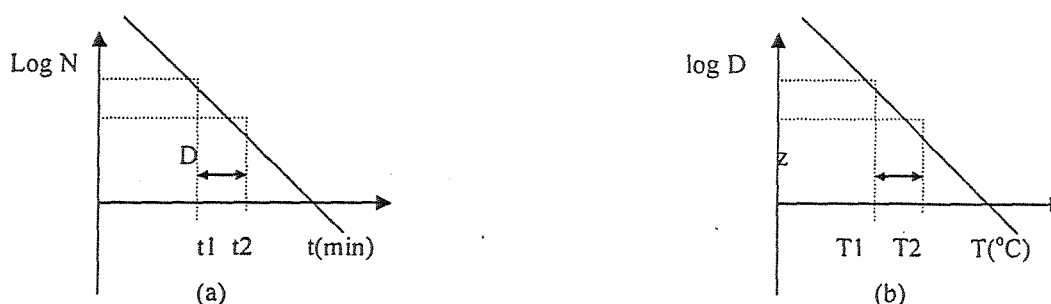
Untuk kapang, kurva pertumbuhan dibuat dengan menimbang berat miselia. Isolat kapang dibiakkan dalam PDA miring selama 5 hari kemudian ditambahkan 10 ml larutan pengencer steril untuk melepaskan sporanya. Caranya adalah dengan menambahkan 3 ml terlebih dahulu lalu dilepas sporanya dengan jarum ose dari agar miring dan ditambahkan 7 ml lagi sampai terbentuk suspensi inokulum. Untuk melarutkan spora ditambahkan tween 20 sebanyak 0,1% dan divortex mixer sekitar tiga menit. Untuk mengetahui jumlah spora awal dilakukan dengan *hemacytometer*. Diharapkan jumlah spora akan mencapai sekitar  $10^7$  spora per ml suspensi. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai dengan  $10^6$  dan dipipet sebanyak 1 ml serta dimasukkan dalam media cair PDB 100 ml dalam erlenmeyer 300 ml. Setelah ditutup dengan kapas kemudian diinkubasi dalam *orbital shaker* dengan kecepatan 1500 rpm. Dengan prosedur yang sama dibuat sebanyak 7 buah untuk 7 kali pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan menimbang jumlah miselia. Kurva pertumbuhan dibuat dengan memplot log berat miselia dan hari pengamatan. Akhir fase log ditentukan yaitu setelah kurva mencapai akhir fase eksponensial dan akan masuk ke fase stasioner.

### 4. Pengujian ketahanan panas mikroba (Yamazaki *et al.*, 1997)

Pengukuran ketahanan panas isolat mikroba dilakukan dengan menggunakan metode tabung. Sebelum diuji ketahanan panasnya, masing-masing isolat bakteri ditumbuhkan dan diperbanyak pada medium cair Nutrient Broth (NB) untuk bakteri, sedangkan untuk kapang dan khamir diperbanyak pada medium PDB. Perbanyak bakteri pada medium cair NB dilakukan dengan menginokulasikan satu ose penuh kultur bakteri ke dalam 10 ml NB steril lalu diinkubasikan pada 37°C sesuai fase LLP (*late log phase*) yang dicapai pada masing-masing isolat mikroba pada pembuatan kurva pertumbuhan.

Prosedur pengujian ketahanan panas isolat mikroba adalah sebagai berikut: sejumlah tabung reaksi tertutup berukuran sedang diisi dengan 9 ml *puree* mangga disterilisasi dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tabung-tabung segera didinginkan dalam air mengalir sampai tercapai suhu kamar dan ditambahkan 1 ml isolat mikroba secara aseptis dan di *vortex mixer* selama 2-3 menit. Uji ketahanan panas dilakukan secara terpisah untuk masing-masing isolat mikroba. Uji ketahanan panas bakteri dan kapang/khamir populasi alami adalah dengan langsung mengisikan sebanyak 10 ml *puree* mangga yang tidak disterilisasi pada tabung reaksi tertutup. Pemanasan dilakukan pada *waterbath* dengan suhu *puree* 55,65,75 dan 85°C selama 5,10,15 dan 20 menit. Pengukuran bagian dalam *puree* dilakukan dengan mencelupkan termometer langsung ke tengah-tengah *puree* kontrol. Setelah suhu kontrol *puree* tercapai maka dengan cepat tabung-tabung uji dimasukkan dalam *waterbath* dan ditunggu sampai waktu perlakuan. Suhu dipertahankan dengan menambah atau mengurangi air dalam penangas. Untuk masing-masing jenis mikroba, suhu dan waktu pemanasan yang berbeda dilakukan secara duplo.

Setelah waktu pemanasan tercapai, tabung segera diangkat dan didinginkan dengan air dingin mengalir hingga mencapai suhu 30°C. Selanjutnya dilakukan plating dengan seri pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$  dengan perbandingan sampel dan pengencer adalah 1 ml berbanding 9 ml. Perhitungan jumlah koloni dilakukan dengan hitungan cawan (metode tuang) menggunakan medium NA untuk bakteri dan PDA untuk kapang dan khamir. Perhitungan jumlah koloni dilakukan untuk setiap jenis mikroba yang diuji pada masing-masing suhu dan waktu pemanasan, termasuk perhitungan jumlah sel awal (tanpa pemanasan)



Gambar 1 Penentuan nilai D dan nilai z a) Nilai D, b) Nilai z

(Heldman dan Singh, 2001).

Nilai D ditentukan dengan membuat plot antara waktu (t) dan log jumlah mikroba (log N) (Gambar 1a) dimana nilai D merupakan jarak antara t1 dengan t2 untuk satu siklus log. Nilai z ditentukan dengan membuat plot antara log nilai D dan suhu (T) (Gambar 1b) dimana nilai z merupakan jarak antara T1 dengan T2.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolat Bakteri Sel Vegetatif

Isolat bakteri nonspora terdiri dari dua macam koloni yaitu: bakteri koloni bulat kecil yang disebut isolat bakteri A dan bakteri koloni melebar yang disebut isolat bakteri B. Isolat bakteri A mempunyai koloni bulat dengan ukuran relatif kecil dan berwarna coklat muda dan mempunyai Gram positif (Gambar 2a). Isolat bakteri B mempunyai

koloni melebar di permukaan cawan seperti lilin meleleh, sel berbentuk batang dan mempunyai Gram negatif (Gambar 2b). Bakteri-bakteri ini diduga berasal dari bahan baku, peralatan dan juga manusia. Hal ini dimungkinkan terjadi mengingat pada proses pembuatan *puree* mangga sendiri tidak dilakukan pengupasan kulit dan selalu terjadi kontak dengan alat dan manusia, di samping itu proses pasteurisasi tidak membunuh semua bakteri.

Menurut Shearer *et al.* (2002) bakteri yang sering mengkontaminasi buah mangga segar adalah kelompok bakteri Gram negatif yang meliputi *Salmonella sp* dan *E.coli* dan juga kelompok bakteri Gram positif yaitu *Listeria sp*. Selanjutnya dilaporkan bahwa pada produk jus buah-buahan, ketiga bakteri tersebut menjadi target untuk inaktivasi. Sedangkan Shaw (1994) menyebutkan bahwa bakteri yang sering mengkontaminasi pada pengolahan buah mangga adalah *Coliform*. Bakteri-bakteri yang tumbuh pada *puree* mangga diduga adalah golongan bakteri termotoleran karena masih dapat bertahan pada suhu yang relatif tinggi yaitu suhu pemanasan 75°C. Menurut Supardi dan Sukanto (1999) dibutuhkan suhu lebih dari 60°C selama 10-20 menit untuk membunuh golongan bakteri ini. Pasteurisasi 76°C selama 30 menit masih memungkinkan adanya mikroba termotoleran seperti *Micrococcus* dan *Streptococcus* serta galur lainnya.

### Isolat Khamir

Isolat khamir yang diperoleh terdiri dari empat macam koloni yaitu: khamir koloni bulat kecil yang disebut isolat khamir C, khamir koloni bulat besar yang disebut isolat khamir D, khamir koloni bulat bermata yang disebut isolat khamir E, dan khamir koloni titik-titik kecil yang disebut isolat khamir F. Isolat-isolat khamir tersebut semuanya berwarna putih. Dari keempat isolat tersebut diketahui bahwa ada dua isolat yang dominan yaitu isolat khamir C dan isolat khamir E. Uji ketahanan panas dilakukan terhadap kedua isolat yang dominan tersebut.

Isolat khamir C mempunyai ciri-ciri koloni berbentuk bulat, ukuran kecil berwarna putih susu. Sel khamir ini berbentuk oval memanjang dengan ukuran sel relatif lebih kecil dan membentuk *pseudomiselium* (Gambar 2c). Isolat khamir D mempunyai ciri-ciri bentuk koloni bulat, ukuran besar berwarna putih susu agak coklat muda, sel khamir ini berbentuk bulat besar dan tidak membentuk *pseudomiselium* (Gambar 1d). Isolat khamir E mempunyai koloni berbentuk bulat dimana ditengahnya terdapat mata berwarna putih, sel khamir ini berbentuk oval dan membentuk *pseudomiselium* (Gambar 2e).

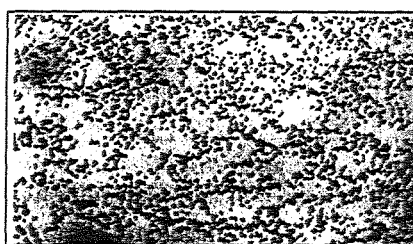
Isolat khamir F mempunyai koloni berupa titik-titik berwarna putih, sel khamir ini berbentuk silinder memanjang dan membentuk *pseudomiselium* (Gambar 2f). Menurut Supardi dan Sukanto (1999), khamir yang tumbuh pada *puree* mangga adalah khamir yang bersifat asidofilik yaitu dapat hidup dan tumbuh pada pH asam dimana khamir ini mampu tumbuh sampai kisaran pH minimal 1,5 - 2,0.

Torok dan King (1991) dan Shearer *et al.* (2002) menyebutkan bahwa lebih dari 239 khamir telah diidentifikasi sebagai perusak pada produk olahan buah-buahan seperti konsentrat dan sayuran di USA diantaranya termasuk *Candida* dan *Sacharomyces*. Barnett *et al.* (2000) juga melaporkan bahwa khamir ini sering ditemukan dalam buah-buahan, jus buah dan vinegar. Khamir biasanya menyebabkan kerusakan pada *puree* mangga yaitu dengan terjadinya penyimpangan flavor dan penampakan akibat adanya fermentasi. *Puree* mangga yang dikemas dalam botol dan telah disimpan beberapa hari apabila dibuka tutupnya akan terjadi letupan gas dan berbusa, setelah itu *puree* akan tumpah. Hal ini diduga karena adanya aktivitas khamir yang memfermentasi glukosa yang diubah menjadi CO<sub>2</sub> dan alkohol. Hal ini sesuai dengan pendapat Fardiaz (1992) bahwa sifat dari khamir khususnya *Sacharomyces sp* antara lain adalah mampu memfermentasi hampir 70% glukosa dalam substrat dan akan diubah menjadi CO<sub>2</sub> dan alkohol.

## Isolat Kapang

Isolat kapang yang diperoleh terdiri dari tiga macam koloni yaitu: kapang koloni abu-abu yang disebut isolat kapang G, kapang koloni hitam yang disebut isolat kapang H dan kapang koloni hijau yang disebut isolat kapang I. Dari ketiga isolat tersebut diketahui bahwa ada dua isolat yang dominan yaitu isolat kapang G dan isolat kapang H. Ciri-ciri isolat kapang G adalah mempunyai koloni bulat berwarna putih abu-abu dan setelah beberapa hari maka tumbuh miselia seperti untaian kapas di atas permukaan media, berwarna putih bila masih berumur muda kemudian berubah warna menjadi abu-abu. Gambar isolat kapang ini dapat dilihat pada Gambar 2g. Melihat ciri-ciri fisiknya diduga kapang tersebut adalah golongan *Rhizopus* sp. Ciri spesifik lainnya adalah hifa nonseptat, mempunyai stolon dan rhizoid yang berwarna gelap jika sudah tua, sporangia biasanya besar dan berwarna hitam dan mempunyai pertumbuhan yang cepat dimana membentuk miselium seperti kapas (Barnet *et al.* 2000). Sedangkan isolat kapang H mempunyai koloni bulat hitam dan bila sudah berumur tua akan terlihat banyak spora. Gambar isolat kapang ini dapat dilihat pada Gambar 2h. Melihat ciri-cirinya kapang tersebut diduga adalah golongan *Aspergillus* sp. Kapang ini mempunyai kepala pembawa konidia yang besar yang dipak secara padat, bulat dan berwarna hitam. Konidianya kasar dan mengandung banyak pigmen. Ciri spesifik lainnya antara lain adalah hifa septat dan miselium bercabang, koloninya kompak (Fardiaz, 1992).

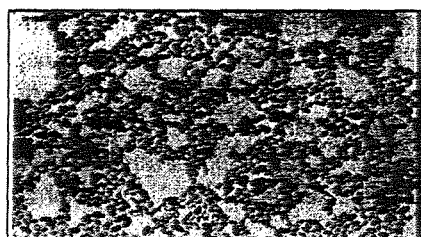
Isolat kapang I adalah berbentuk bulat dan berwarna hijau. Gambar isolat kapang ini dapat dilihat pada Gambar 2i. Melihat ciri-cirinya kapang tersebut diduga adalah golongan *Penicillium* sp. Ciri-ciri spesifik *Penicillium* adalah hifa septat, miselium bercabang dan biasanya tidak berwarna, konidia pada waktu masih muda berwarna hijau kemudian berubah menjadi kebiruan atau kecoklatan (Barnett *et al.* 2000). Kapang menyebabkan kerusakan pada *puree* mangga karena biasanya tumbuh di permukaan *puree* mangga. Akibatnya akan merusak penampilan akibat timbulnya hifa dan bisa mengubah warna asli dari *puree* mangga. Kapang-kapang ini biasanya bersifat aerobik, oleh karena masih adanya oksigen di dalam botol pengemas karena tidak divakum pada waktu pengemasan. Kapang-kapang tersebut berasal dari bahan baku yaitu buah mangga pada waktu proses, dimana menurut Ray (2000) kapang-kapang yang terdapat pada buah-buahan yang menyebabkan kebusukan adalah *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* dan lain-lain.



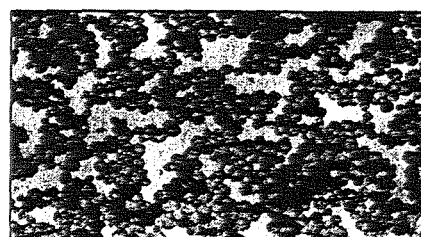
Gambar 2a Isolat bakteri A



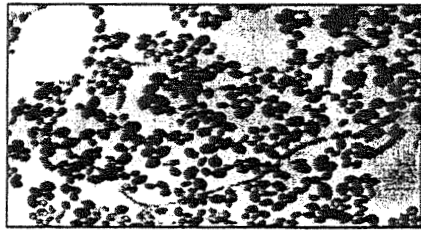
Gambar 2b Isolat bakteri B



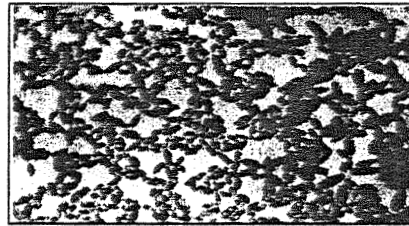
Gambar 2c Isolat khamir C



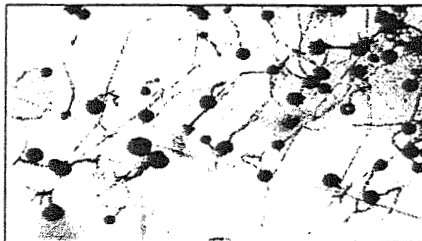
Gambar 2d Isolat khamir D



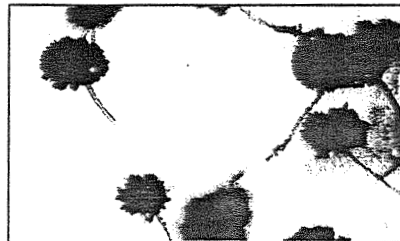
Gambar 2e Isolat khamir E



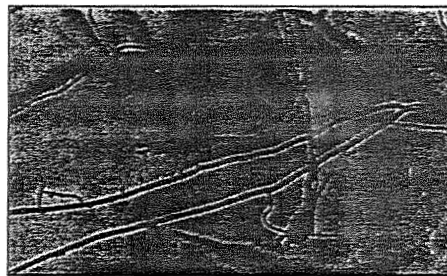
Gambar 2f Isolat khamir F



Gambar 2g Isolat kapang G



Gambar 2h Isolat kapang H



Gambar 2i Isolat kapang I

Gambar 2. Isolat mikroba

### Kurva Pertumbuhan Isolat

Sebelum dilakukan uji ketahanan panas terhadap isolat-isolat, terlebih dahulu dibuat kurva pertumbuhannya untuk menentukan akhir fase lognya (LLP). Hal ini dimaksudkan agar isolat kultur uji memiliki tipe dan karakteristik yang seragam. Mikroba yang berada pada fase stasioner pada umumnya lebih toleran kepada lingkungan dibandingkan dengan mikroba yang tumbuh pada fase log. Kurva pertumbuhan suatu mikroba adalah spesifik tergantung jenis dan spesiesnya. Demikian halnya waktu tercapainya akhir fase log suatu mikroba juga berbeda antar mikroba. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa fase LLP yang paling cepat dicapai pada bakteri kemudian khamir dan kapang. Waktu untuk mencapai akhir fase log isolat mikroba *puree* mangga dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Waktu untuk mencapai akhir fase log isolat mikroba *puree* mangga

Isolat	Akhir fase log (LLP)
Isolat bakteri A	11 jam
Isolat bakteri B	11 jam
Isolat khamir C	21 jam
Isolat khamir E	23 jam
Isolat kapang G	6 hari
Isolat kapang H	5 hari

Untuk mendapatkan keseragaman fase maka isolat mikroba yang akan diuji ketahanan panasnya diinkubasi terlebih dahulu pada medium cair pada suhu pertumbuhan yang optimal sampai tercapai waktu pada akhir fase lognya.

### Ketahanan Panas Mikroba

#### Ketahanan panas bakteri

Isolat bakteri A mempunyai nilai D dan z lebih rendah daripada isolat bakteri B (Tabel 2). Hal ini kemungkinan disebabkan karena isolat bakteri B adalah bakteri Gram negatif, sedangkan isolat bakteri A adalah bakteri Gram positif. Perbedaan struktur dinding sel menyebabkan perbedaan daya tahan bakteri terhadap gangguan lingkungan. Bakteri Gram positif mempunyai dinding sel yang sangat tebal dimana 90% dari dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan, sedangkan lapisan tipis lainnya adalah asam teikoat (Fardiaz, 1992). Peptidoglikan terdiri dari asam N-asetil muramat dan N-asetil glukosamin serta ikatan-ikatan asam amino yang kuat. Faktor tersebut menyebabkan bakteri Gram positif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap gangguan fisik (panas) daripada bakteri Gram negatif (Supardi dan Sukanto, 1999).

Tabel 2 Rekapitulasi nilai D dan z isolat mikroba *puree* mangga

No	Mikroba	Nilai D (menit)				Nilai z (°C)
		D55°C	D65°C	D75°C	D85°C	
1	Bakteri tidak membentuk spora					
	- isolat bakteri A	8.76	2.5	0.99	-	21.23
	- isolat bakteri B	5.87	1.2	-	-	15.04
2	Khamir					
	- isolat khamir C	7.94	3.73	1.19	-	24.39
	- isolat khamir E	7.98	2.57	-	-	20.28
3	Kapang					
	- isolat kapang G	29.59	5.92	2.12	-	17.48
	- isolat kapang H	29.85	9.86	2.56	-	18.76
4	Mikroba populasi alami					
	- Bakteri	12.92	8.58	4.96	3.7	52.91
	- Khamir / Kapang	11.9	7.29	4.31	3.51	54.95

Nilai D dan z isolat bakteri tersebut di atas lebih tinggi daripada yang disebutkan di pustaka, dimana Mazzota (2001) melaporkan bahwa nilai D56°C *Salmonella* adalah



2,43 menit, D60°C adalah 0,44 menit, D62°C adalah 0,28 menit dengan nilai z sebesar 6,2°C dalam medium pemanasan jus anggur dengan pH adalah 3,9. Sementara itu Murhadi (1994) melaporkan bahwa nilai D65°C dari *S. aureus* adalah 2,89 menit, D75°C adalah 0,08 menit dan nilai z nya adalah 6,4°C pada kalio daging sapi.

Hal tersebut di atas terjadi karena adanya perbedaan medium pemanasan dimana *puree* mangga mempunyai konsistensi yang lebih pekat dari pada jus dan kalio sehingga berpengaruh terhadap perambatan panasnya yang akan menjadi lebih lambat. Data lain yang menyebutkan bahwa medium pemanasan berpengaruh terhadap ketahanan panas mikroba adalah seperti yang dilaporkan oleh Mazzota dan Doyle (2000) bahwa *S. typhimurium* pada medium TSB mempunyai nilai D55°C sebesar 14 menit sedangkan pada medium fosfat D55°C adalah 3,7 menit. Selain itu perbedaan ketahanan panas mikroba diduga karena adanya perbedaan galur, tipe percobaan, kondisi kultur dan dosis panas yang diterima.

#### Ketahanan panas khamir

Nilai D dan z isolat khamir C lebih tinggi bila dibandingkan dengan isolat khamir E berarti isolat khamir C lebih tahan panas daripada isolat khamir E (Tabel 2). Isolat khamir hasil penelitian mempunyai ketahanan panas yang lebih tinggi dari yang disebutkan di pustaka, seperti yang dilaporkan oleh Tchango *et al.* (1997) bahwa pada media jus nenas (pH 3,95), *Candida pelliculum* mempunyai nilai D dan nilai z adalah D65°C sebesar 3,2 menit, D75°C sebesar 1,5 menit dan nilai z sebesar 31,75°C. Sedangkan pada *nectar* jambu biji (pH 3,15) mempunyai D65°C sebesar 2,49 dan nilai z sebesar 34,84°C.

Selain itu Shearer *et al.* (2002), melaporkan bahwa nilai D dan z *S. cereviceae* juga bervariasi. Pada media jus apel (pH 3,9), nilai D57°C sebesar 32 menit, D60°C sebesar 6,9 menit, D63°C sebesar 2,1 menit dan nilai z sebesar 5,1°C. Sedangkan pada jus buah lainnya (pH 2,8), nilai D57°C adalah 9,4 menit, D60°C adalah 2,8 menit dan D63°C adalah 0,4 menit dengan nilai z sebesar 5,8°C. Pada 0,1 M buffer citrat (pH 4,0), nilai D60°C adalah 2,8 menit dengan nilai z sebesar 3,5°C. Garza *et al.* (1994), juga melaporkan bahwa D60°C dari *S. cereviceae* dalam *puree peach* (pH 3,9) adalah 0,53 menit.

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa nilai D dan z khamir adalah bervariasi tergantung dari galur, jenis media pemanasan maupun pHnya. Hal ini seperti yang dilaporkan oleh Mazzota dan Doyle (2000) serta Garza *et al.* (1994) bahwa faktor-faktor yang menyebabkan perbedaan ketahanan panas mikroba adalah karena adanya perbedaan galur, media pemanasan, tipe percobaan, kondisi kultur dan dosis panas. *Puree* mangga hasil penelitian ini memiliki pH antara 4,12 – 4,2 yang mendekati pH dari jus nenas, sehingga nilai D untuk isolat khamir adalah mendekati hasil penelitian Tchango *et al.* (1997).

#### Ketahanan panas kapang

Nilai D dan z isolat kapang H yang diduga sebagai *Rhizopus sp* yang lebih rendah dibandingkan dengan isolat kapang G yang diduga sebagai *Aspergillus sp* (Tabel 2). Hasil penelitian Shearer *et al.* (2002) menyebutkan bahwa *A. niger* dalam medium pemanasan 0,1M buffer citrat (pH 4,0) mempunyai nilai D60°C sebesar 0,449 menit dengan nilai z sebesar 3,6°C. Sedangkan menurut Samson *et al.* (1981), nilai D60°C *A. niger* adalah 2,2 menit. Tingginya nilai D dan z isolat kapang dari *puree* mangga hasil penelitian diduga karena faktor media pemanasan seperti halnya pada bakteri dan khamir.

### *Ketahanan panas populasi mikroba alami pada puree mangga*

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mikroba *puree* mangga ketika berada dalam keadaan tunggal mempunyai ketahanan panas yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan populasi mikroba alami yang bercampur bersama-sama dengan mikroba lainnya dalam *puree* mangga (Tabel 2). Hal ini terjadi akibat adanya kompetisi mikroba pada *puree* mangga sehingga berpengaruh terhadap toleransi panas yang diterima. Mazzota (2001) melaporkan bahwa kehadiran mikroba yang lain pada uji ketahanan panas *Salmonella* memberikan efek proteksi terhadap kerusakan panas. Selain itu disebutkan terjadinya perbedaan ketahanan panas antara mikroba tunggal/murni dan populasi mikroba alami adalah karena perbedaan karakteristik media, perubahan total padatan, keasaman dan Aw. Padatan yang tinggi dan pH rendah akan meningkatkan ketahanan panas mikroba. Hal ini dimungkinkan terjadi pada *puree* mangga, pada mikroba tunggal medianya adalah *puree* mangga yang melewati proses sterilisasi dulu sebelum ditambahkan isolat mikroba uji. Pemanasan pada proses sterilisasi mengakibatkan terjadinya penurunan viskositas oleh karena rusaknya pektin yang awalnya larut sehingga mengakibatkan transfer panas menjadi lebih cepat. Olle *et al.* (1996), menyebutkan bahwa polisakarida yang larut pada *pulp* mangga adalah berupa senyawa pektin yang mempunyai derajat esterifikasi tinggi, selain itu senyawa pektin juga terdapat pada dinding sel *pulp* mangga.

Perbedaan ketahanan panas antara mikroba tunggal dan populasi mikroba alami diduga juga berhubungan dengan metabolit sel dimana apabila jumlah mikroba besar maka metabolitnya juga besar. Menurut Fardiaz (1992) metabolit ini biasanya berupa senyawa protein dimana protein bersifat melindungi bakteri terhadap panas karena protein adalah koloid yang menurunkan hantaran panas.

### KESIMPULAN

Bakteri yang berhasil diisolasi dari *puree* mangga yang telah rusak terdiri dari dua macam koloni yaitu isolat bakteri A yang mempunyai Gram positif dan isolat bakteri B yang mempunyai Gram negatif. Isolat khamir yang diperoleh terdiri dari empat macam yaitu isolat khamir C, isolat khamir D, isolat khamir E, dan isolat khamir F, dimana dua isolat khamir yang dominan adalah isolat khamir C dan isolat khamir E. Isolat kapang yang diperoleh terdiri dari tiga macam koloni yaitu isolat kapang G yang diduga adalah golongan *Rhizopus sp.*, isolat kapang H yang diduga adalah golongan *Aspergillus sp.* dan isolat kapang I yang diduga adalah golongan *Penicillium sp.* Dari ketiga isolat tersebut diketahui bahwa ada dua isolat yang dominan yaitu isolat kapang G dan isolat kapang H. Isolat-isolat mikroba mempunyai karakteristik ketahanan panas yang berbeda-beda. Isolat-isolat bakteri mempunyai ketahanan panas yang lebih rendah daripada mikroba populasi alami yang terdapat pada *puree* mangga. Bakteri populasi alami mempunyai ketahanan panas yang paling tinggi dengan nilai  $z$  sebesar 52,91 °C.

### DAFTAR PUSTAKA

- BPS. 2002. Produksi Buah-buahan di Indonesia. Jakarta.
- Barnett, J.A., R.W. Payne., D. Yarrow. 2000. Yeast Characteristics and Identification. Cambridge: University Press.

- Daulay, D. 1989. Identifikasi Mikroba yang Berperan Dalam Fermentasi Tauco. [laporan penelitian]. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Garza, S., J.A. Teixido., V. Sanxchis, I. Vinas, S. Condon. 1994. Heat Resistance of *S.cereviceae* Strains Isolated From Spoiled Peach Puree. *J.Food Micro* 23:209-213.
- Heldman, D.R, R.P. Singh, 2001. Introduction to Food Engineering. London: Academic Press.
- Mazzota, A.S. 2001. Thermal inactivation of stationary-phase and acid adapted *E.coli* O157:H7, *Salmonella*, and *L.monocytogenes* in Fruit juices. *J. Food Protection* 64:315-320.
- Mazzota, S., M.E. Doyle. 2000. Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. *J.Food Protection* 63:779-795.
- Olle, D., A. Baron., F. Lazano, J.M. Brillouet. 1996. Enzymatic degradation of cell wall polysaccharides from mango puree. *J. Agric. Food Chem* 48 : 2713-2716.
- Patel, P.D. 1994. Rapid Analysis Techniques in Food Microbiology. London : Blackie Academic & Professional.
- Ray, B. 2000. Fundamental Food Microbiology. Second Edition. London: CRC Press.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra., A.N. Oorschot. 1981. Introduction to Food Borne Fungi. Netherlands: Istitute of the Royal Netherlands. Academy of Arts and Science.
- Shaw, C., J.A. Guthrie, J. Kenneth., R. Roberts. 1994. Coliforms in processed mango. *J.Food Microbiology* 25:51-61.
- Shearer, A.E., A.S. Mazzota, R. Chuyate., DE. Gombas. 2002. Heat resistance of juice spoilage microorganism. *J.Food Protection* 65:1271-1275.
- Supardi, I, Sukanto. 1999. Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Bandung: Alumni.
- Tchango, J.T, R. Tailliez, P. Njine, J.P. Honez. 1997. Heat resistance of spoilage yeast *C.pelliculosa* and *K.apis* and pasteurization values for some tropical fruit juices and nectars. *J.Food Micro*. 14:93-99.
- Torok, T, A.D. King. 1991. Comparative study on the identification of foodborne yeast. *Appl. Environ. Micro*. 57:1207-1212
- Yamazaki, K., Y. Kawai, N. Inoue, H. Shinano. 1997. Influence of sporulation medium and divalent ions on the heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores. *Letters in Appl. Micro*. 25:153-156.