

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
eISSN: 2655-8122
<https://ejournal3.unud.ac.id/index.php/metamorfosa/>

Identifikasi Jamur Kontaminan Pada Biji Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) Dari Desa Belok/Sidan, Kecamatan Petang

Identification of Contaminant Fungal on Arabica Coffee Beans (*Coffea Arabica* L.) From Belok/Sidan Village, Petang District

Anak Agung Devina Asana Putri^{1*}, Ida Bagus Gede Darmayasa¹, Ni Luh Arpiwi¹

¹Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Jalan Raya Kampus UNUD, Bukit Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali - 80361

*Email: devinaasanaputri@student.unud.ac.id

INTISARI

Rendahnya kualitas biji kopi arabika disebabkan oleh kontaminasi beberapa jenis jamur pada permukaan biji, salah satu jenis jamur yang dominan adalah *Aspergillus*. Langkah pertama dari pencegahan kontaminasi jamur pada permukaan biji kopi arabika adalah mengetahui informasi jenis jamur tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik jamur kontaminan yang diisolasi dari biji kopi arabika dengan pendekatan morfologi dan molekuler. Prosedur penelitian ini adalah pemeriksaan jamur kontaminan, isolasi dan identifikasi jamur dari biji kopi arabika, dan identifikasi molekuler jamur dengan persentase kontaminasi tertinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji kopi arabika yang berasal dari Banjar Bon, Desa Belok/Sidan, Kecamatan Petang, Kabupaten Badung terkontaminasi oleh 3 jenis jamur yaitu *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*. Jenis jamur dengan kontaminasi tertinggi adalah *Aspergillus* sp. 1 dengan persentase kontaminasi sebesar $68,89 \pm 0,96\%$. Karakter morfologi jamur *Aspergillus* sp. 1 yaitu koloni berwarna hijau kekuningan, koloni bertekstur kasar, konidia berbentuk bulat dan bertekstur halus, vesikel berbentuk bulat, dan struktur konidiofor tunggal. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa *Aspergillus* sp. 1 memiliki panjang pita DNA yaitu 582 *base pair* (bp), serta konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa *Aspergillus* sp. 1 berada pada satu kelompok dengan *Aspergillus flavus* A26R dengan kode akses MN095167.1. Berdasarkan identifikasi morfologi dan molekuler yang telah dilakukan, biji kopi arabika telah terkontaminasi oleh *Aspergillus flavus*.

Kata kunci: identifikasi molekuler, *internal transcribed spacer* (ITS), jamur kontaminan, komoditas pasca panen, uji kertas saring.

ABSTRACT

The low quality of arabica coffee beans is caused by contamination of several types of fungi on the surface of the beans, one of the dominant types of fungi is *Aspergillus*. The first step in preventing fungal contamination on the surface of arabica coffee beans is to find out information about the type of fungus. This study aims to analyze the characteristics of contaminant fungi isolated from arabica coffee beans using morphological and molecular

approaches. The research procedure were examination of contaminant fungi, isolation and identification of fungi from arabica coffee beans, and molecular identification of fungi with the highest percentage of contamination. The results showed that arabica coffee beans from Banjar Bon, Belok/Sidan Village, Petang District, Badung Regency were contaminated by 3 types of fungi, namely *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Rhizopus*. The type of fungus with the highest contamination was *Aspergillus* sp. 1 with a contamination percentage of $68.89 \pm 0.96\%$. The morphological characteristics of *Aspergillus* sp. 1 fungi are yellowish green colonies, rough textured colonies, round and smooth textured conidia, round vesicles, and single conidiophore structures. Molecular identification shows that *Aspergillus* sp. 1 has a DNA band length of 582 base pairs (bp), and the construction of a phylogenetic tree shows that *Aspergillus* sp. 1 is in the same group as *Aspergillus flavus* A26R with accession code MN095167.1. Based on the morphological and molecular identification that has been carried out, arabica coffee beans have been contaminated by *Aspergillus flavus*.

Keyword: blotter test. contaminant fungi, internal transcribed spacer (ITS), molecular identification, post-harvest commodities.

PENDAHULUAN

Kopi (*Coffea* sp.) merupakan komoditas unggulan dari subsektor perkebunan yang memiliki peluang sebagai komoditas ekspor. Komoditas kopi Indonesia yang kerap diperdagangkan adalah kopi robusta (*Coffea canephora*) dan kopi arabika (*Coffea arabica*) (Alexander dan Nadapdap, 2019). Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2022) menyebutkan bahwa petani lebih memilih budidaya biji kopi arabika karena rerata harga biji kopi arabika pada tahun 2021 jauh lebih tinggi hingga mencapai Rp.69.553,00/kg sedangkan rerata harga kopi robusta pada tahun yang sama hanya mencapai Rp.30.930,00/kg. Peningkatan jumlah produksi biji (dalam ton) sangat berkaitan dengan penerapan *Good Agricultural Practices* (GAP). Penanganan pada tahapan panen dan pasca panen yang kurang tepat menyebabkan rendahnya kualitas biji akibat kontaminasi jamur pada biji kopi (Widiastuti *et al.*, 2015). Putri *et al.* (2022) telah melakukan penelitian serupa yang menunjukkan persentase cemaran *Aspergillus flavus* pada permukaan biji kopi arabika yang berasal dari gudang penyimpanan kargo di wilayah Denpasar, Bali sebesar $60 \pm 5,44\%$. Yani (2008) menyebutkan biji kopi arabika yang telah tercemar oleh *A. flavus* sebaiknya tidak digunakan atau dikonsumsi oleh manusia dan hewan karena dapat mengandung mikotoksin.

Jamur *Aspergillus* merupakan jenis jamur kontaminan umum pada berbagai substrat di daerah tropis dan subtropis (Lilia *et al.*, 2021). Keberadaan jamur *Aspergillus* pada biji kopi arabika disebabkan oleh massa konidia yang ringan sehingga mampu mengontaminasi produk pertanian, serta konidia yang mampu berkecambah pada berbagai kondisi lingkungan (Cassas-Junco *et al.*, 2018). Langkah pertama dari pencegahan kontaminasi jamur pada permukaan biji kopi arabika adalah mengetahui informasi jenis jamur tersebut. Jamur *A. flavus* dapat dikenali melalui karakter makroskopis dan mikroskopis pada permukaan substrat pertumbuhannya, namun pengenalan jenis melalui karakter morfologi tidak dapat menentukan jenis spesifik dari jamur ini (Mustafa and Rostam, 2021).

Identifikasi jamur secara konvensional dapat dilakukan berdasarkan karakteristik morfologi, meliputi karakteristik secara makroskopis pada permukaan media pertumbuhan dan karakteristik secara mikroskopis melalui mikroskop binokuler. Identifikasi jamur berdasarkan karakter morfologi memiliki keterbatasan sehingga penentuan jenis (spesies) dan klasifikasi jamur menjadi rancu (Arifah *et al.*, 2023). Oleh karena itu, diperlukan pengenalan melalui urutan nukleotida jamur dengan pendekatan molekuler sehingga dapat terkonfirmasi dengan benar bahwa jamur pengontaminasi pada biji kopi arabika adalah *A. flavus*.

Identifikasi jamur secara molekuler dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) diperlukan agar hasil pemeriksaan jenis yang cukup akurat sehingga dapat dilakukan identifikasi isolat pada tingkat spesies (Mustafa and Rostam, 2021). Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik jamur kontaminan yang diisolasi dari biji kopi arabika dengan pendekatan morfologi dan molekuler.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel biji kopi arabika dilakukan di Banjar Bon, Desa Belok/Sidan, Kecamatan Petang, Kabupaten Badung. Isolasi jamur kontaminan dilakukan di Laboratorium Biokimia, Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana. Identifikasi morfologi *A. flavus* dilakukan di Laboratorium Bersama FMIPA, Universitas Udayana. Identifikasi molekuler *A. flavus* dilakukan di PT. Genetika Science Indonesia, Tangerang, Banten. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – Agustus 2024.

Pemeriksaan Jamur Kontaminan pada Biji Kopi Arabika

Pemeriksaan jamur pada biji kopi arabika dengan metode pengujian kertas saring (*blotter test*) (Badan Karantina Pertanian, 2007). Kertas saring berdiameter 90 mm diletakkan ke dalam cawan Petri steril berukuran 100 mm x 15 mm, kemudian dibasahi dengan *aquabidest* hingga kertas saring terlihat lembab. Sampel biji kopi arabika sebanyak 45 butir diletakkan di atas kertas saring dengan pinset steril, kemudian diinkubasi selama 7 hari dalam suhu ruang ($\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Jamur yang telah tumbuh pada permukaan biji kopi arabika diamati dan dihitung persentase infeksi jamur. Parameter yang diamati pada permukaan biji kopi arabika yaitu frekuensi dominan dari jamur yang menginfeksi biji kopi arabika yang digunakan. Persentase kontaminasi jamur yang dominan pada biji kopi arabika dihitung dengan rumus menurut Lilia *et al.*, (2021), yaitu:

$$\text{Persentase Kontaminasi Jamur} = \frac{\text{Jumlah biji terkontaminasi jamur}}{\text{Total biji yang diamati}} \times 100\%$$

Isolasi dan Identifikasi Jamur dari Biji Kopi Arabika

Jamur pada biji kopi arabika diambil dengan jarum ent yang sebelumnya telah dipijarkan di atas api Bunsen, kemudian diinokulasi pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Inkubasi dilakukan selama 5 hari pada inkubator dengan suhu ruang ($\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Koloni jamur yang telah tumbuh diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Parameter identifikasi secara makroskopis adalah diameter koloni, warna permukaan koloni, dan tekstur koloni. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan pembuatan preparat jamur. Kaca objek ditetesi dengan pewarna *lactophenol cotton blue*, kemudian serpihan hifa jamur diletakkan pada permukaan kaca objek dengan pewarna *lactophenol cotton blue* dan ditutup dengan kaca penutup. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mikroskop binokuler, perbesaran 400x. Parameter identifikasi secara mikroskopis adalah bentuk konidia, diameter konidia, struktur konidiofor, dan diameter konidiofor. Hasil identifikasi tersebut dicocokkan literatur terkait yaitu *Fungi and Food Spoilage* (Pitt and Hocking, 2009).

Identifikasi Molekuler *Aspergillus* sp. 1 yang Diisolasi dari Biji Kopi Arabika

Ekstraksi DNA

Tahapan ekstraksi DNA jamur mengikuti panduan yang tertera pada kit Quick-DNA Magbead Plus (Zymo Research, D4082). Sebanyak 50 mg miselium jamur diambil pada permukaan media PDA dengan *scalpel* steril, kemudian ditambahkan 750 μL larutan penyangga DNA/RNA *Sheild* pada tabung lisis ZR BashingBead™ dan sampel

dihomogenkan selama 1 menit. Sebanyak 400 µL lisat ditambahkan 400 µL Quick-DNA™ MagBinding Buffer dengan mikropipet, selanjutnya campuran dihomogenkan. Sampel dipindahkan ke *magnetic stand* (ZR-96 MagStand) hingga komponen DNA terpisah dari larutan, lalu komponen DNA diangkat dan supernatan dibuang. Sampel kemudian dipindahkan dari *magnetic stand* (ZR-96 MagStand). Sampel ditambahkan 900 µL g-DNA Wash Buffer, lalu dihomogenkan dengan pipet pengaduk atau shaker dengan kecepatan 1100-1500 rpm selama 1 menit. Sampel dipindahkan ke *magnetic stand* (ZR-96 MagStand) hingga komponen DNA terpisah dari larutan, lalu komponen DNA diangkat dan supernatan dibuang. Prosedur penambahan g-DNA Wash Buffer hingga pemindahan sampel dari *magnetic stand* (ZR-96 MagStand) diulangi sebanyak 2 kali. Sampel dikeringkan di elemen panas (*hotplate*), lalu sampel diinkubasi pada suhu 55 °C selama 10 menit. Sampel ditambahkan 50 µL DNA Elution Buffer, kemudian sampel dihomogenkan dengan *shaker* pada suhu ruang selama 5 menit. Ekstrak DNA jamur dapat segera digunakan atau disimpan pada *freezer* dengan suhu ≤ -20 °C (Zymo Research, 2024).

Primer Amplifikasi

Tahapan amplifikasi dilakukan pada wilayah *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Primer yang digunakan pada tahapan amplifikasi adalah primer universal ITS_1 sebagai *forward primer* (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan ITS_4 sebagai *reverse primer* (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Mustafa and Rostam, 2021).

Amplifikasi wilayah ITS dengan PCR

Amplifikasi DNA dengan PCR menggunakan *mastermix* konvensional yaitu (2x) My Taq HS Red Mix (Bioline, BIO-25048). Tahapan amplifikasi dilakukan dengan total volume pada instrumen PCR sebanyak 25 µL dengan masing-masing komponen reaksi yaitu ekstrak DNA jamur sebagai cetakan sebanyak 50 ng, primer sebanyak 1 µL dengan masing-masing konsentrasi primer adalah 0,4 µM, MyTaq HS Red Mix (2x) sebanyak 12,5 µL, dan *aquabidest* (ddH₂O) ditambahkan hingga volume komponen reaksi mencapai 25 µL. Tahapan amplifikasi dimulai dari pre-denaturasi (*initial denaturation*) sebanyak 1 siklus dengan suhu 95 °C selama 1 menit, kemudian dilakukan denaturasi (*denaturation*) sebanyak 35 siklus dengan suhu 95 °C selama 10 detik, lalu dilakukan *annealing* sebanyak 35 siklus dengan suhu 52 °C selama 15 detik, lalu pemanjangan (*extension*) sebanyak 35 siklus dengan suhu 72 °C selama 15 detik, dan pemanjangan akhir (*post-extension*) sebanyak 35 siklus dengan suhu 72 °C selama 2 menit (Bioline, 2024).

Elektroforesis dengan Gel Agarosa

Amplikon atau segmen DNA jamur yang telah melalui tahapan amplifikasi selanjutnya melalui tahapan elektroforesis untuk mengetahui ukuran segmen DNA yang telah diperbanyak oleh instrumen PCR. Tahapan elektroforesis dilakukan dengan gel agarosa 1% dalam larutan TBE 1x. Sebanyak 5 µL amplikon dicampurkan dengan 1 µL *loading dye*, kemudian dipindahkan ke sumuran gel. Acuan dari ukuran pita DNA yang digunakan yaitu marker dengan ukuran 10.000 *base pair* (bp). Tahapan elektroforesis dilakukan pada tegangan 75 volt selama 45 menit. Pita DNA yang telah terpisah diamati dengan UV transluminator, kemudian pita DNA dengan ukuran ~700 bp akan melalui tahapan penentuan urutan nukleotida atau sekuens (*sequencing*) di 1st Base Malaysia (Donastin *et al.*, 2022).

Penentuan similaritas sekuens dengan BLAST-N

Urutan nukleotida yang diperoleh dari tahapan *sequencing* dibandingkan dengan urutan nukleotida (sekuens) pada basis data sekuens GenBank dengan membuka laman *Basic*

Local Alignment Search Tool for Nucleotide (BLAST-N). Urutan nukleotida (sekuens) yang berada dalam satu spesies yang sama harus memenuhi syarat yaitu nilai persentase identitas (*percent identity*) >97%, *query cover* >80%, dan nilai E yang paling mendekati 0. Nilai E merupakan nilai dugaan yang memberikan ukuran statistik yang signifikan terhadap kedua sekuens (Raja *et al.*, 2017).

Analisis dan konstruksi pohon filogenetik

Analisis dan konstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan perangkat lunak (*software*) *Molecular Evolutionary Genetic Analysis 11* (MEGA 11). Beberapa urutan nukleotida yang serupa dengan urutan nukleotida target dipilih dari basis data sekuens GenBank lalu dikelompokkan sebagai *in group*, kemudian beberapa urutan nukleotida yang berkerabat cukup dekat dengan *in group* dikelompokkan sebagai *out group*. Tahapan penyempurnaan konstruksi pohon filogenetik dari urutan nukleotida yang telah sejajar dilakukan dengan metode *maximum likelihood* (ML) dengan *bootstrap* 1000x (Raja *et al.*, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Kontaminasi Jamur pada Permukaan Biji Kopi Arabika

Biji kopi arabika dari Desa Belok/Sidan, Petang, Badung telah terkontaminasi jamur *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*. Jenis jamur dengan kontaminasi tertinggi adalah *Aspergillus* sp. 1 sebesar $68,89 \pm 0,96\%$ (Tabel 1). Biji kopi arabika kerap mengalami kontaminasi oleh mikroorganisme selama masa pra panen, pasca panen, dan penyimpanan (Nega, 2014). Penelitian sebelumnya oleh Hagos *et al.* (2024) melaporkan hal serupa yaitu biji kopi arabika kerap dikontaminasi oleh 4 jenis jamur, meliputi *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*; dengan jenis dominan adalah *Aspergillus* spp. (84,74%), *Fusarium* (8,75%), *Penicillium* (5,49%), dan *Rhizopus* (1,02%).

Pertumbuhan jamur dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain jumlah nutrisi yang tersedia pada substrat, suhu lingkungan, aktivitas air, dan oksigen yang tersedia (Cassas-Junco *et al.*, 2018). Berdasarkan pernyataan oleh Cassas-Junco *et al.* (2018), kadar air pada biji kopi arabika merupakan faktor yang sangat diperhatikan setelah proses pengeringan biji. Jumlah kadar air pada biji kopi arabika mampu memengaruhi perkecambahan, pertumbuhan, dan pembentukan spora jamur; namun jenis jamur yang mengontaminasi permukaan biji kopi arabika pada penelitian ini adalah kelompok jamur xerofilik. Waller *et al.* (2007) menyebutkan bahwa jamur xerofilik hanya memerlukan substrat pertumbuhan yang mengandung kadar air minimal sebesar 16%, serta kelompok jamur ini memiliki rentang suhu pertumbuhan yang cukup luas berkisar antara 15-30 °C. Jenis jamur yang termasuk dalam kelompok jamur xerofilik, meliputi *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Cladosporium*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Maman *et al.* (2021) diketahui bahwa terdapat beberapa jenis jamur yang mampu mengontaminasi biji kopi arabika dengan kadar air sebesar 13%, antara lain *Aspergillus* dan *Rhizopus*.

Identifikasi Jamur pada Biji Kopi Arabika

Aspergillus sp. 1

Berdasarkan hasil identifikasi karakter morfologi jamur *Aspergillus* sp. 1 secara makroskopis, antara lain koloni berwarna hijau muda atau hijau kekuningan, tepi koloni berwarna putih, koloni bertekstur kasar, dan terdapat zona pertumbuhan pada bagian tepi koloni. Koloni *Aspergillus* sp. 1 memiliki diameter 48 mm pada media PDA dengan waktu inkubasi selama 5 hari pada suhu ruang (± 25 °C). Karakter morfologi secara mikroskopis, meliputi konidium bulat dengan diameter 4,75 μm , konidium bertekstur halus, konidia

tersebar di sekitar hifa, terdapat sterigma dengan panjang 17,96 μm , vesikel bulat, vesikel berdiameter 33,22 μm , dan struktur konidiofor tunggal dengan diameter 9,71 μm (Tabel 2).

Hasil identifikasi karakter morfologi *Aspergillus* sp. 1 sesuai dengan karakter morfologi yang dimiliki oleh *Aspergillus flavus*. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Samson *et al.* (2010), *A. flavus* memiliki koloni dengan susunan yang padat, koloni berwarna kuning hingga hijau muda, vesikel berbentuk bulat hingga setengah bulat, dan konidiofor tidak berwarna (hialin) dengan tekstur kasar. Pernyataan Fauzi *et al.* (2022) juga sesuai dengan hasil identifikasi pada penelitian ini yaitu *Aspergillus flavus* kerap ditemukan pada biji kopi arabika dengan koloni berwarna hijau muda, memiliki konidiofor panjang dan tidak berwarna (hialin), ujung konidiofor terdapat vesikel, serta konidia berbentuk bulat dan berwarna hijau hingga kuning.

Tabel 1. Persentase kontaminasi jamur pada permukaan biji kopi arabika

No.	Jenis Jamur	Total Sampel Biji	Biji Terkontaminasi			Total Biji Terkontaminasi	Kontaminasi Jamur (%)
			I	II	III		
1.	<i>Aspergillus</i> sp. 1	45	13	9	9	31	68,89 \pm 0,96
2.	<i>Aspergillus</i> sp. 2	45	1	0	1	2	4,44 \pm 0,42
3.	<i>Aspergillus</i> sp. 3	45	0	0	0	1	2,22 \pm 0,31
4.	<i>Penicillium</i> spp.	45	1	2	3	6	13,33 \pm 0,67
5.	<i>Rhizopus</i> spp.	45	0	3	2	5	11,11 \pm 0,68

Keterangan: Persentase kontaminasi jamur merupakan nilai yang didapatkan dari 3 kali ulangan. Nilai rerata pada persentase kontaminasi jamur merupakan rerata \pm standar deviasi.

***Aspergillus* sp. 2**

Hasil identifikasi menunjukkan karakter morfologi *Aspergillus* sp. 2 secara makroskopis, yaitu koloni berwarna hitam, tepi koloni berwarna putih, koloni bertekstur kasar, dan terdapat zona pertumbuhan pada bagian tepi koloni. Koloni *Aspergillus* sp. 2 memiliki diameter 45 mm pada media PDA dengan waktu inkubasi selama 5 hari pada suhu ruang (\pm 25 $^{\circ}\text{C}$). Karakter morfologi secara mikroskopis, meliputi konidium bulat dengan diameter 3,71 μm , konidium bertekstur halus, konidia tersebar di sekitar hifa, terdapat sterigma dengan panjang 24,91 μm , vesikel bulat, vesikel berdiameter 38,26 μm , dan struktur konidiofor tunggal berdiameter 12,83 μm (Tabel 2).

Hasil identifikasi karakter morfologi *Aspergillus* sp. 2 sesuai dengan karakter morfologi yang dimiliki oleh *Aspergillus niger*. Penelitian sebelumnya oleh Fendiyanto *et al.* (2021) melaporkan *A. niger* merupakan jamur yang ditemukan pada biji-bijian pasca panen. Identifikasi yang telah dilakukan oleh Fauzi *et al.* (2022) menunjukkan karakteristik yang serupa yaitu koloni berwarna hitam, konidiofor tidak berwarna (hialin), vesikel bulat dan berwarna cokelat, serta konidia bulat, bertekstur kasar, dan berwarna hitam. Fauzi *et al.* (2022) juga menyebutkan bahwa *A. niger* merupakan jenis jamur yang mudah tumbuh di pada berbagai kondisi lingkungan.

***Aspergillus* sp. 3**

Berdasarkan hasil identifikasi pada karakter morfologi jamur *Aspergillus* sp. 3 secara makroskopis, antara lain permukaan koloni berwarna kuning muda, tepi koloni berwarna putih, koloni bertekstur kasar, dan terdapat zona pertumbuhan pada bagian tepi koloni. Koloni *Aspergillus* sp. 3 memiliki diameter 39 mm pada media PDA dengan waktu inkubasi selama 5 hari pada suhu ruang (\pm 25 $^{\circ}\text{C}$). Karakter morfologi secara mikroskopis, meliputi konidium bulat dengan tekstur halus, konidium tumbuh pada bagian ujung sterigma, terdapat

sterigma dengan panjang 15,06 μm , vesikel bulat, vesikel berdiameter 36,35 μm , dan struktur konidiofor tunggal dengan diameter 12,31 μm (Tabel 2).

Hasil identifikasi karakter morfologi *Aspergillus* sp. 3 sesuai dengan karakter morfologi yang dimiliki oleh *Aspergillus ochraceus*. Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Fauzi *et al.* (2022), *A. ochraceus* dilaporkan terdapat pada biji kopi arabika. Arifah *et al.* (2023) melakukan identifikasi morfologi pada *A. ochraceus* yang menunjukkan bahwa jamur ini memiliki koloni berwarna kuning hingga oranye tua dengan miselia berwarna putih, koloni dengan sporulasi padat, serta vesikel berwarna kuning dengan dinding tipis dan bertekstur halus. Jamur *Aspergillus* sp. 3 memiliki kemampuan pertumbuhan yang cukup lambat dibandingkan jenis jamur *Aspergillus* lainnya yang mengontaminasi biji kopi arabika. Hal ini dibuktikan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Arifah *et al.* (2023) yang melaporkan diameter koloni *A. ochraceus* pada permukaan media PDA berukuran 50-60 mm dengan waktu inkubasi selama 7 hari pada suhu ruang.

***Penicillium* spp.**

Karakter morfologi jamur *Penicillium* spp. secara makroskopis, antara lain permukaan koloni berwarna biru tua hingga keabuan, tepi koloni berwarna putih, koloni bertekstur halus, dan terdapat zona pertumbuhan pada bagian tepi koloni. Koloni *Penicillium* spp. memiliki diameter 19 mm pada media PDA dengan waktu inkubasi selama 5 hari pada suhu ruang ($\pm 25^\circ\text{C}$). Karakter morfologi secara mikroskopis, meliputi konidium berbentuk bulat bertekstur kasar dengan diameter 3,40 μm , konidia tersebar di sekitar hifa, terdapat sterigma, terdapat rami atau percabangan konidiofor dengan panjang 10,34 μm , dan konidiofor atau stipe memiliki 2-3 percabangan dengan diameter konidiofor atau stipe yaitu 2,97 μm (Tabel 2).

Jamur *Penicillium* spp. dilaporkan mampu mengontaminasi biji kopi arabika sebelum fase pemanenan hingga fase pasca panen (Lilia *et al.*, 2021). Hasil identifikasi karakter morfologi *Penicillium* spp. sesuai dengan karakter morfologi isolat *Penicillium* yang telah diidentifikasi oleh Arifah *et al.* (2023), meliputi koloni berwarna keabuan dengan tepi koloni berwarna putih, pertumbuhan koloni tidak teratur koloni bertekstur seperti beludru, hifa tidak berwarna (hialin) dan membentuk septa, konidiofor berdinding halus, metula dan fialid merupakan perpanjangan dari konidiofor, konidia bulat hingga bulat tidak sempurna, serta konidia bertekstur halus. Pertumbuhan koloni *Penicillium* spp. dinilai cukup lambat pada media PDA yang ditandai dengan diameter koloni hanya mencapai 13 mm dengan waktu inkubasi selama 7 hari pada suhu ruang.

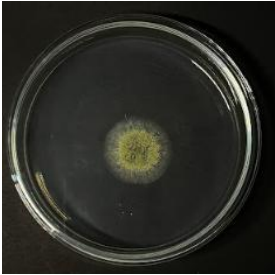
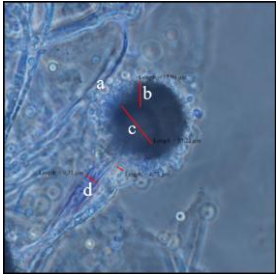
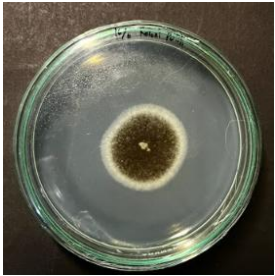
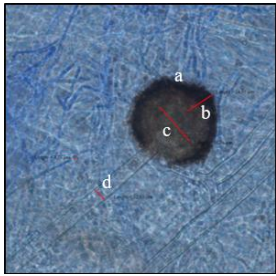
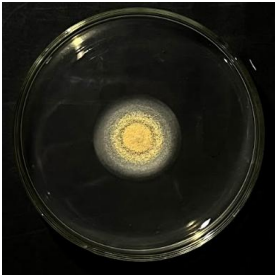
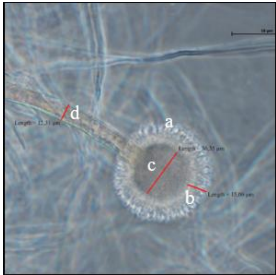
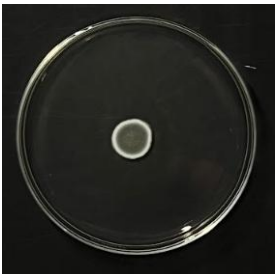
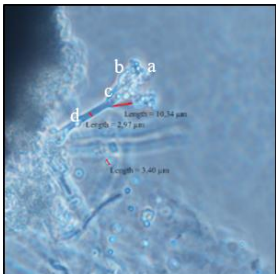

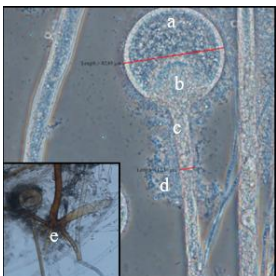
***Rhizopus* spp.**

Karakter morfologi jamur *Rhizopus* spp. secara makroskopis, antara lain koloni berwarna putih, koloni bertekstur kasar, dan tidak terdapat zona pertumbuhan. Koloni *Rhizopus* spp. memiliki diameter sebesar 90 mm pada media PDA dengan waktu inkubasi selama 5 hari pada suhu ruang ($\pm 25^\circ\text{C}$). Karakter morfologi secara mikroskopis, meliputi spora bulat, spora berwarna hitam, spora terdapat di dalam sporangium dengan diameter 82,65 μm , sporangiofor berdiameter 12,30 μm , spora tersebar di sekitar sporangiofor, terdapat *columella* pada bagian ujung sporangiofor, dan terdapat rhizoid pada pangkal sporangiofor (Tabel 2).

Kontaminan pasca panen yang kerap ditemukan pada permukaan komoditas pasca panen adalah jamur *Rhizopus* spp. (Arifah *et al.*, 2023). Hasil identifikasi karakter morfologi *Rhizopus* spp. sesuai dengan karakter morfologi isolat *Rhizopus* yang telah diidentifikasi oleh Zheng *et al.* (2007), meliputi koloni berwarna putih dengan bagian atas koloni berwarna abu-abu tua hingga hitam, tekstur koloni seperti wol, rhizoid tidak memiliki septa dan berwarna cokelat, rhizoid memiliki struktur seperti jari, terdapat 2-3 sporangiofor yang tumbuh pada

rhizoid, sporangiofor tidak memiliki septa dan berwarna kekuningan hingga cokelat, sporangiofor bertekstur halus, serta klamidospora berbentuk bulat dan terdapat dalam interkalar massal. Serupa dengan penelitian ini, Arifah *et al.* (2023) juga menyebutkan bahwa koloni *Rhizopus* memiliki kemampuan pertumbuhan dengan baik pada media PDA yang ditandai dengan diameter koloni mencapai 90 mm dengan waktu inkubasi selama 3 hari pada suhu 27 °C.

Tabel 2. Jenis jamur yang ditemukan pada permukaan biji kopi arabika dengan waktu inkubasi selama 5 hari pada inkubator dengan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).

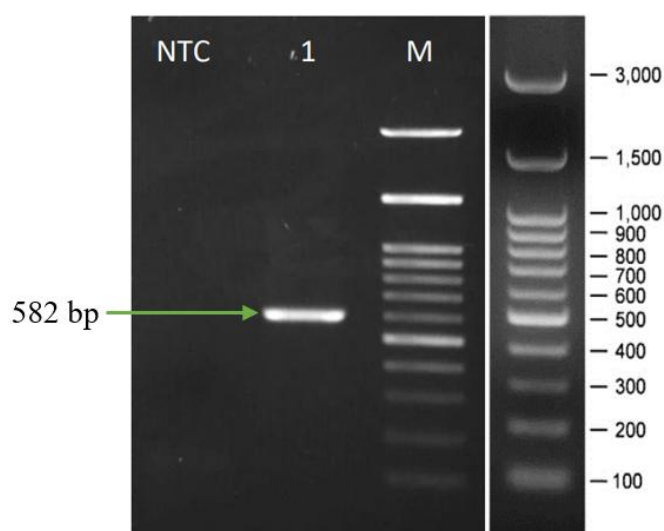
No.	Jenis Jamur	Karakter Makroskopis	Karakter Mikroskopis	Keterangan
1.	<i>Aspergillus</i> sp. 1			a. Konidium b. Sterigma c. Vesikel d. Konidiofor
2.	<i>Aspergillus</i> sp. 2			a. Konidium b. Sterigma c. Vesikel d. Konidiofor
3.	<i>Aspergillus</i> sp. 3			a. Konidium b. Sterigma c. Vesikel d. Konidiofor
4.	<i>Penicillium</i> spp.			a. Konidia b. Sterigma c. Rami d. Konidiofor
5.	<i>Rhizopus</i> spp.			a. Sporangium b. Columella c. Sporangiofor d. Spora e. Rhizoid

Keterangan: Pengamatan makroskopis dilakukan pada permukaan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mikroskop binokuler (400x).

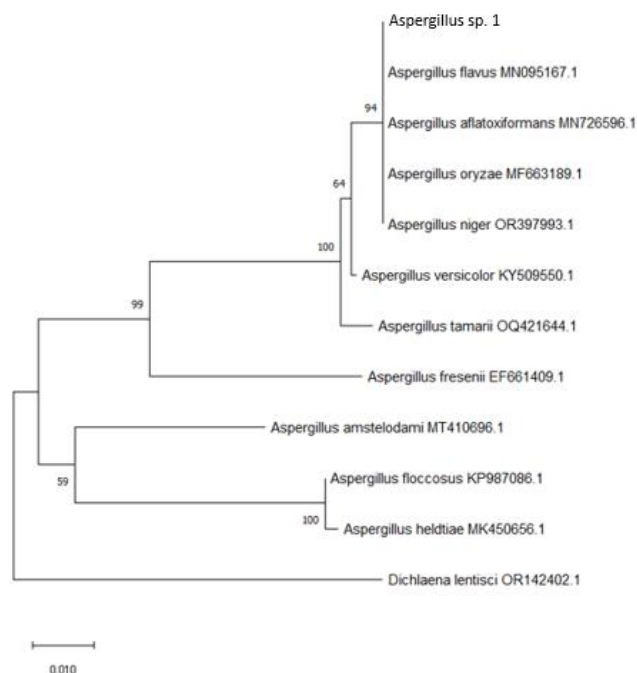
Identifikasi Molekuler *Aspergillus* sp. 1 yang diisolasi dari Biji Kopi Arabika

Identifikasi jamur dengan pendekatan molekuler pada penelitian ini hanya dilakukan pada 1 jenis jamur, yaitu *Aspergillus* sp. 1. Hal tersebut disebabkan karena *Aspergillus* sp. 1 memiliki persentase kontaminasi tertinggi dibandingkan jenis jamur lainnya. Berdasarkan identifikasi molekuler yang telah dilakukan, produk amplifikasi dari *Aspergillus* sp. 1 menunjukkan panjang pita DNA yaitu 582 bp (Gambar 1). Hasil identifikasi molekuler oleh Zarrin *and* Erfaninejad (2016) menyebutkan bahwa identifikasi molekuler pada semua isolat *A. flavus* dengan primer universal ITS-1 dan ITS-4 menunjukkan ukuran amplicon sepanjang ± 595 base pair (bp). Arifah *et al.* (2023) juga menyebutkan pernyataan serupa bahwa tahapan amplifikasi menggunakan primer universal ITS_1 dan ITS_4 menghasilkan amplicon sepanjang ± 600 bp pada semua isolat *A. flavus*.

Berdasarkan hasil analisis pada laman BLAST-N diketahui bahwa urutan nukleotida (sekuens) dari *Aspergillus* sp. 1 memiliki kecocokan dengan *Aspergillus flavus* dengan *percentage identity* sebesar 99,83 - 100,00%; nilai *query cover* sebesar 99 - 100%; serta *expectation value* (E value) sebesar 0,0. Hasil dari konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa *Aspergillus* sp. 1 berada pada satu kelompok dengan *Aspergillus flavus* dengan kode akses MN095167.1 pada National Library of Medicine, serta dengan nilai *bootstrap* pada kategori tinggi (>85%) (Gambar 2). Jamur *A. flavus* dengan kode akses MN095167.1 pada National Library of Medicine termasuk ke dalam *A. flavus* strain A26R yang sebelumnya telah berhasil diidentifikasi oleh Norlia *et al.* (2019) pada biji kacang tanah mentah yang akan diimpor dari Malaysia ke China. Norlia *et al.* (2019) juga melakukan identifikasi molekuler pada gen biosintesis aflatoxin yang menunjukkan bahwa *A. flavus* strain A26R tidak memiliki kemampuan dalam memproduksi aflatoxin karena tidak memiliki gen biosintesis aflatoxin (*aflR*, *aflP*, *aflD*, *aflM*, dan *pksA*), namun hanya memiliki gen *glcA* yang berperan sebagai gen pemanfaatan gula, serta sebagai penanada positif untuk *A. flavus* yang tidak memiliki potensi toksigenik.



Gambar 1. Hasil amplifikasi PCR wilayah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) dari *Aspergillus* sp. 1 dengan primer ITS_1 (*forward*) dan ITS_4 (*reverse*). Keterangan: NTC = Non-Template Control; 1 = Produk PCR dari *Aspergillus* sp. 1; dan M = Marker.



Gambar 2. Konstruksi pohon filogenetik dari *Aspergillus* sp. 1 dengan spesies *Aspergillus* lainnya sebagai *ingroup* dan jamur *Dichlaena lentisci* OR142402.1 sebagai *outgroup*.

KESIMPULAN

Biji kopi arabika telah terkontaminasi oleh beberapa jenis jamur, yaitu *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*. Jamur *Aspergillus* sp. 1 memiliki persentase kontaminasi tertinggi yaitu $68,89 \pm 0,96\%$. Karakter makroskopis *Aspergillus* sp. 1, meliputi koloni berwarna hijau muda atau hijau kekuningan, tepi koloni berwarna putih, dan koloni bertekstur kasar; sedangkan karakter mikroskopis *A. flavus*, meliputi konidium bulat dan bertekstur halus, vesikel bulat, dan terdapat sterigma yang menempel pada vesikel. Karakteristik jamur *Aspergillus* sp. 1 juga diidentifikasi melalui pendekatan molekuler, dengan panjang pita DNA yang dimiliki adalah 582 bp; serta berada pada satu kelompok dengan *Aspergillus flavus* dengan kode akses MN095167.1.

SARAN

Eksplorasi jamur *Aspergillus flavus* dengan sifat toksigenik dan non-toksigenik pada biji kopi arabika di Bali, Indonesia perlu dilakukan untuk penelitian selanjutnya. Penentuan toksisitas jamur dapat dilakukan dengan prosedur identifikasi molekuler pada gen penanda spesifik aflatoxin atau prosedur *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, I. dan H. J. Nadapdap. 2019. Analisis Daya Saing Ekspor Biji Kopi Indonesia di Pasar Global Tahun 2002-2017. *JSEP*. 12(2): 1-16. DOI: <https://doi.org/10.19184/jsep.v12i2.11271>
- Arifah, F., L. Q. Aini, dan A. Muhibuddin. 2023. Molecular and morphological characterization of fungi isolated from nutmeg (*Myristica fragrans*) in North Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas*. 24(1): 441-453. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d260642>
- Badan Karantina Pertanian. 2007. *Pedoman Diagnosis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina Golongan Jamur*. Badan Karantina Pertanian. Jakarta.
- Bioline. 2024. Meridian Bioscience: MyTaq™ HS Red Mix. <https://www.bioline.com/mytaq-hs-red-mix.html> (Diakses pada 8 Mei 2024).

- Cassas-Junco, P. P., J. A. Ragazzo-Sánchez, F. J. Ascencio-Valle, and M. Calderón-Santoy. 2018. Determination of potentially mycotoxigenic fungi in coffee (*Coffea arabica* L.) from Nayarit. *Food Sci Biotechnol.* 27(3): 891-898. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0288-7>
- Donastin, A., M. P. Koentjoro, M. T. Hidayat, dan E. N. Prasetyo. 2022. Perbandingan Tiga Metode Isolasi DNA *Aspergillus niger*. *Jurnal Metamorfosa.* 9(1): 69-78. DOI: <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v09.i01.p07>
- Fauzi, A., Martinius, and Z. Resti. 2022. Post-harvest Fungal Infection in Arabica Coffee Beans (*Coffea arabica* L.) in the Coffee Center of West Sumatra Province, Indonesia. *JPT: Jurnal Proteksi Tanaman (Journal of Plant Protection).* 6(2): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.25077/jpt.6.2.1-10.2022>
- Fendiyanto, M. H., R. D. Satrio, M. P. Pratami, and I. A. Nikmah. 2021. Identification of spoilage fungi in *Myristica fragrans* using DG18 and CYA Media. *Asian J Trop Biotechnol.* 18(2): 51-54. DOI: <https://doi.org/10.13057/biotek/c180201>
- Hagos, L., M. Guta, and K. Bacha. 2024. Prevalence of mycotoxigenic fungi and ochratoxin A in coffee (*Coffea arabica* L.). *Cogent Food and Agriculture.* 10(1): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2407524>
- Lilia, D., N. Damiri, M. Zulkarnain, and Mulawarman. 2021. Short Communication: Drying Methods and Diversity of Contaminant Fungi on Coffee Beans in South Ogan Komering Ulu District, South Sumatra, Indonesia. *BIODIVERSITAS.* 22(2): 1037-1042. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220260>
- Maman, M., S. Sangchote, O. Piasai, W. Leesutthiphonchai, H. Sukorini, and N. Khewkhom. 2021. Storage fungi and ochratoxin A associated with arabica coffee bean in postharvest processes in Northern Thailand. *Food Control.* 130: 108351. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108351>
- Mustafa, K. and S. K. Rostam. 2021. Molecular Identification of Local Isolates *Aspergillus nidulans* from Erbil Province Using Internal Transcribed Spacers. *International Journal of Applied Biology.* 5(2): 24 – 42. DOI: <https://doi.org/10.20956/ijab.v5i2.14745>
- Nega, A. 2014. Isolation and Identification of Fungal Pathogens Associated with Cold Storage Type of Coffee Arabica Seed, at Jimma Agricultural Research Center, Western Ethiopia. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare.* 4(25): 20-26. DOI: <https://doi.org/10.5923/j.jbah.20140425.03>
- Norlia, M., S. Jinap, M. A. R. Nor-Khaizura, S. Radu, C. K. Chin, N. I. P. Samsudin, and A. H. Farawahida. 2019. Molecular Characterisation of Aflatoxigenic and Non-Aflatoxigenic Strains of *Aspergillus* Section *Flavi* Isolated from Imported Peanuts along the Supply Chain in Malaysia. *Toxins.* 11(501): 1-20. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11090501>
- Pitt, J. I. and A. D. Hocking. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. Springer. Boston.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2022. *Outlook Komoditas Perkebunan: Kopi*. Sekretariat Jendral Kementrian Pertanian. Jakarta.
- Putri, A. A. D. A., M. W. Proborini, dan P. S. Devi. 2022. Efektivitas Filtrat *Trichoderma asperellum* TKD terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica*). *Biota.* 7(3): 189-198. DOI: <https://doi.org/10.24002/biota.v7i3.6077>
- Raja, H.A., Miller, A.N., Pearce, C.J., Oberlies, N.H. 2017. Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *Journal of Natural Products.* 80(3): 756–770. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Samson, R. A., J. Houbraken, U. Thrane, J. C. Frisvad, and B. Andersen. 2010. *Food and Indoor Fungi (Vol. 2)*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. Utrecht.
- Waller, J. M., M. Bigger, and R. J. Hillocks. 2007. *Coffee pests, diseases & their management*. CABI. Wallingford.

- Widiastuti, A., O. H. Ningtyas, dan A. Priyatmojo. 2015. Identifikasi Jamur Penyebab Penyakit Pascapanen pada Beberapa Buah di Yogyakarta. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 11(3): 91-96. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.11.3.91>
- Zarrin, M. and M. Erfaninejad. 2016. Molecular variation analysis of *Aspergillus flavus* using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of the internal transcribed spacer rDNA region. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 12(3):1628–1632. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3479>
- Zheng, R. Y., G. Q. Chen, H. Huang, and X. Y. Liu. 2007. A monograph of Rhizopus. *Sydowia*. 59: 273-372.
- Zymo Research. 2024. Quick-DNA™ MagBead Plus Kit (Intruction Manual). <https://zymoresearch.eu/products/quick-dna-magbead-plus-kit?srsltid=AfmBOop62TkhivVHb7Nc2FMzw8KYieWKh5zZe22zPG32vAyM1GSR92CD> (Diakses pada 11 November 2024).