

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Teh

Teh diperoleh dari pengolahan bahan daun tanaman teh *Camelia sinensis*, L) dari familia *Theaceae*. Saat ini teh telah menjadi minuman dunia, yang disajikan sebagai minuman sehari-hari baik di rumah, kafetaria, rumah makan, dan sebagainya. Minuman teh digemari sebagai minuman baik di pagi hari, siang, sore atau malam. (Siswoputranto,1978). Beberapa hasil pertanian yang mudah ditumbuhi oleh fungi antara lain kacang tanah, padi, gandum, jagung, kedelai, biji kapas, ketela pohon, jewawut, sorghum, kelapa dan lain-lain, juga ditemukan pula pada coklat, teh, kopi dan buah-buahan sejenis almond (Godblatt, 1969; Schade dan Fuller, 1974; Buchanan dkk.,1975) dalam Makfoeld (1993). Penelitian yang telah dilakukan oleh Hitokoto dkk. (1974) dalam Makfoeld (1993) menyatakan bahwa di dalam teh hijau diketahui jamur yang dominan adalah *Aspergillus niger*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus versicolor*.

Berikut ini ditunjukkan komposisi kimia dari daun teh:

Tidak larut dalam air	Prosentase
Serat kasar, selulose, lignin, dll	22
Protein	16
Lemak	8
Klorofil dan pigmen	1,5
Pektin	4
P a t I	0,5

Larut dalam air	Prosentase
Polifenol yang difermentasi	20
Polifenol lain	10
Kafein	4
Gula	3
Asam amino	7
Mineral	4

Sumber : Hacler,1963

B. Jamur

Jamur (kapang) tersebar secara luas di alam, baik sebagai saprofit maupun sebagai parasit bagi tumbuh-tumbuhan, binatang, dan manusia. Jamur dapat dijumpai pada produk makanan, alat-alat yang kurang bersih atau dapat ditemukan sebagai kontaminan udara. Beberapa jenis jamur dapat digunakan untuk berbagai keperluan manusia, antara lain pembuatan ragi tape dengan *A. oryzae*, pembuatan kecap dengan *A. wentii*, dan pembuatan keju dengan *Penicillium* (Wibowo dan Ristanto, 1988).

Jamur sangat memerlukan bahan yang berbentuk zat organik, selain faktor atau keadaan lingkungan tertentu, seperti temperatur dan pH. Jamur diketahui tidak berklorofil dan tidak mampu mensintesis makanan sendiri, sehingga bersifat heterotrof (Makfoeld, 1993).

Jamur tergolong dalam Eumycetes atau fungi sejati dan terdiri atas empat klasis yaitu Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes dan Deuteromycetes (Fungi Imperfecti). *Aspergillus* bersama-sama dengan *Penicillium* merupakan anggota dari klasis Deuteromycetes. *Aspergillus* memiliki sifat-sifat morfologi seperti miselia bercabang biasanya tidak berwarna, konidiofora bersepta atau tidak bersepta yang

muncul dari sel kaki. Rantai-rantai konidia terbentuk pada sterigmata sekunder yang merupakan cabang-cabang dari sterigmata primer (Rahayu dkk, 1989).

Sebagian besar bahan makanan merupakan bahan yang mudah rusak, dan kerusakan ini disebabkan oleh jamur. Adanya pertumbuhan jamur dalam media yang berasal dari berbagai bahan makanan yang diperiksa, menunjukkan adanya jamur yang dapat menyebabkan kerusakan pada bahan makanan tersebut. Bahan makanan tersebut apabila dimakan manusia atau binatang, kemungkinan dapat menyebabkan gangguan kesehatan. Kemungkinan lain dengan pencemaran tersebut mengakibatkan terbentuknya bahan-bahan yang berbahaya yaitu mikotoksin yang dihasilkan oleh jamur tertentu seperti *Aspergillus*. Bahan-bahan yang telah rusak ini dapat menjadi sumber pencemaran bagi bahan-bahan lain yang masih baik yang ada di sekitarnya (Wibowo dan Ristanto, 1988).

Pertumbuhan *Aspergillus* terbaik pada perlakuan media Czapek-dox Agar yang ditambah air rendaman jagung. Media Czapek-dox Agar merupakan media yang cocok bagi pertumbuhan *Aspergillus* karena mengandung nutrisi yang diperlukan seperti natrium nitrat dan mineral lain yang berguna (Kasanah, 1997), (Raper dan Fennel, 1977).

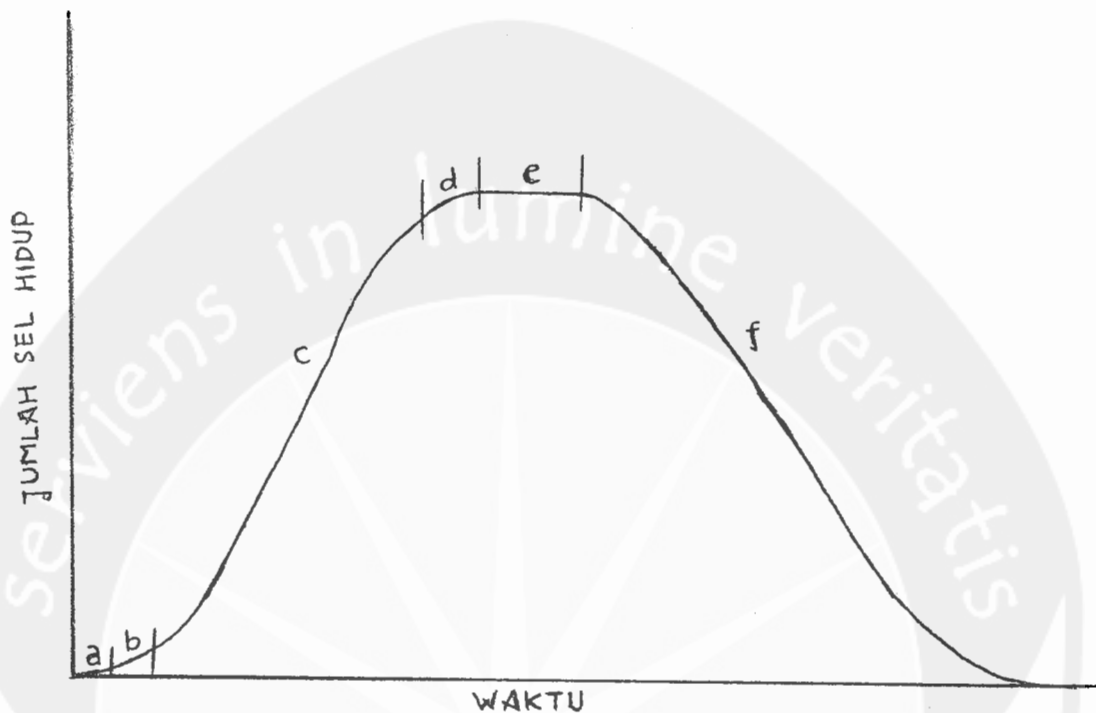
C. Pertumbuhan Jamur

Menurut Fardiaz (1992), pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan secara teratur semua komponen di dalam sel hidup. Pada organisme multiseluler yang disebut pertumbuhan adalah peningkatan jumlah sel per organisme, dan ukuran sel juga menjadi lebih besar. Pertumbuhan mikrobial dalam suatu media

diikuti dalam waktu pengamatan yang cukup lama, maka dapat digambarkan dalam bentuk pola atau fase pertumbuhan yang meliputi:

- a. Fase adaptasi yaitu fase pada saat mikrobia menyesuaikan diri dengan lingkungan baru dan sel-sel mulai membesar tetapi belum membelah diri.
- b. Fase pertumbuhan dipercepat yaitu fase saat mikrobia mulai membelah diri tetapi waktu generasi masih panjang.
- c. Fase pertumbuhan logaritma yaitu fase saat kecepatan pembelahan sel paling tinggi dan waktu generasi pendek.
- d. Fase pertumbuhan yang mulai menghambat yaitu fase saat kecepatan pembelahan sel mulai berkurang, jumlah mikrobia yang mati bertambah banyak karena nutrisi mulai berkurang.
- e. Fase stasioner yaitu fase pertumbuhan saat kadar nutrisi semakin berkurang dan sel tidak tumbuh lagi.
- f. Fase kematian dipercepat yaitu fase saat kecepatan kematian meningkat terus dan kecepatan pembelahan sel menjadi 0.

Kurva pertumbuhan biomassa yang terdiri dari beberapa fase pertumbuhan dapat ditunjukkan pada Gambar 1 berikut:



Keterangan a : fase lag
 b : fase pertumbuhan dipercepat
 c : fase logaritmik
 d : fase pertumbuhan diperlambat
 e : fase stasioner
 f : fase kematian dipercepat

Gambar 1. Kurva pertumbuhan mikrobial pada kondisi pertumbuhan yang optimum
 Sumber : Fardiaz, 1992

Menurut Wibowo (1988), kondisi persyaratan yang diperlukan untuk pertumbuhan *Aspergillus* antara lain faktor lingkungan yang meliputi pH, temperatur, nutrisi, sumber energi dan tidak adanya inhibitor yang menghambat pertumbuhan. *Aspergillus niger* tumbuh baik pada medium dengan inkubasi pada suhu 30°C (Cole dan Kendrick, 1981). pH optimum untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* adalah 5,5 sampai 7,0 (Raper dan Fennel, 1977).

Carlile dan Watkinson (1994), pengukuran pertumbuhan secara kuantitatif menunjukkan jumlah biomassa dan waktu, sehingga persamaan kecepatan pertumbuhan logaritmik atau eksponensial adalah sebagai berikut:

$$\mu = 2,3(\log x_t - \log x_0)/t$$

Keterangan :

x_0 = jumlah biomassa pada $t = 0$

x_t = jumlah biomassa setelah waktu t

t = waktu dari x_0 ke x_t dinyatakan dalam jam atau menit

Hubungan kecepatan pertumbuhan spesifik (μ) dengan waktu generasi suatu biomassa dinyatakan dalam persamaan:

$$\ln (x/x_0) = \mu t$$

$$\ln 2 = \mu t_d$$

$$0,693 = \mu t_d$$

$$t_d = 0,693/\mu$$

Persamaan di atas disebut pertumbuhan logaritmik atau eksponensial, penentuan kecepatan pertumbuhan spesifik didasarkan atas pengamatan pertumbuhan pada fase logaritmik tersebut, dan pertumbuhan jamur dalam "homogeneous submerged cultur" atau "batch cultur" dilaporkan mengikuti hukum pertumbuhan yang logaritmik (Carlile dan Watkinson, 1994).

D. Aflatoksin

Aflatoksin adalah zat toksik atau toksin yang dihasilkan oleh fungi antara lain adalah aflatoksin yang dihasilkan oleh jamur tertentu (Wibowo dan Ristanto, 1988). Aflatoksin ini larut dalam air dan solven polar seperti etanol atau metanol tetapi tidak larut dalam solven non-polar atau minyak. Senyawa ini bersifat toksin (beracun) dan umumnya stabil terhadap panas, dingin, sinar dan tidak terurai secara alamiah kecuali dengan enzim-enzim tertentu seperti yang terdapat dalam sel hati atau dalam sel mikroorganisme tertentu. Aflatoksin ini lebih berbahaya karena tidak berwarna, tidak berbau dan tidak berasa, sehingga sukar dikenali adanya secara dini dengan indera (Kuswanto dan Rahayu, 1989). Ada beberapa jenis aflatoksin yang telah diketemukan antara lain aflatoksin jenis B₁, B₂, G₁, G₂. Dengan menggunakan sinar ultraviolet penghasilan aflatoksin yang dihasilkan jamur memperlihatkan koloni warna kelabu atau hitam, sedangkan yang tidak menghasilkan aflatoksin memperlihatkan koloni warna putih (Cheyney *et al.*, 1987). Aflatoksin jenis B₁ dan B₂ akan memberikan fluoresensi warna biru bila disinari dengan sinar ultraviolet, sedangkan aflatoksin jenis G₁ dan G₂ memberikan fluoresensi warna hijau (Heathcote dan Hibbert, 1978).

Beberapa jenis jamur yang telah umum diketahui sebagai penghasil aflatoksin yaitu *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus*, beberapa jenis jamur lainnya yang diketahui dapat juga menghasilkan aflatoksin seperti yang terlihat pada Tabel 1 berikut:

Jenis jamur	Aflatoksin
<i>A. flavus</i>	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂
<i>A. flavus var columnaris</i>	B ₂
<i>A. oryzae</i>	B ₁ , B ₂
<i>A. parasiticus var globosus</i>	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂
<i>A. niger</i>	B ₁
<i>A. wentii</i>	B ₁
<i>A. ruber</i>	B ₁
<i>A. ochraceus</i>	B ₁

Sumber : Dienar dan Davis dalam Achadiyah dkk. (1989)

Aflatoksin yang paling umum terdapat adalah jenis B₁ yang juga merupakan salah satu senyawa yang paling karsinogenik (penyebab timbulnya kanker) yang sudah dikenal manusia. Aflatoksin B₁ memiliki daya racun yang paling kuat dibandingkan jenis aflatoksin lainnya. Hal ini disebabkan oleh satu perbedaan yang nampaknya tidak berarti tetapi berakibat besar pada kekuatan racunnya, yaitu senyawa B secara kimiawi memiliki gugus metoksi (satu oksigen terikat pada gugus metil), sedangkan yang G tidak (Heathcote dan Hibbert, 1977). Lebih lanjut Willie dan Morehouse (1977) dan Pennington (1986) mengemukakan bahwa aflatoksin bersifat larut dalam kloroform (kloroform tersebut sering digunakan dalam ekstraksi aflatoksin dari bahan, baik dalam keadaan murni maupun campuran dengan metanol).

Masing-masing jenis aflatoksin mempunyai rumus bangun yang berlainan, nilai Rf (*Retardation factor*), LD50 (*Lethal Dosis*) dan sifat-sifat kimia yang berbeda.

Aflatoksin B₁ mempunyai rumus molekul C₁₇H₁₂O₆, titik leburnya 268 - 269 °C, pancaran fluoresensi maks 366 nm, dan Rf 0,4 dalam larutan pengembang kloroform: methanol; Aflatoksin G₂ mempunyai rumus molekul C₁₇H₁₂O₇, titik leburnya 244-246 °C, pancaran fluoresensi maks 366 nm, dan Rf 0,34 dalam larutan pengembang kloroform: methanol; Aflatoksin B₂ mempunyai rumus molekul C₁₇H₁₄O₆, titik leburnya 286-289 °C, pancaran fluoresensi maks 366 nm, dan Rf 0,36 dalam larutan pengembang kloroform: methanol; Aflatoksin G₂ mempunyai rumus molekul C₁₇H₁₄O₇, titik leburnya 237- 240°C, pancaran fluoresensi maks 366 nm, dan Rf 0,31 dalam larutan kloroform: methanol (Moreau dan Moss, 1979) dan (Heathcote dan Hibbert, 1978).

Menurut Makfoeld (1993), banyak sekali faktor yang mempengaruhi produksi aflatoksin, antara lain yaitu jenis jamur yang tumbuh, substrat, Rh (*Relative humidity*) atau kelembaban relatif dan kadar air, waktu dan temperatur, kerusakan bahan makanan dan interaksi mikrobial. Temperatur yang mempercepat atau mempermudah pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp adalah suhu 25- 35 °C. pH optimum untuk pembentukan aflatoksin adalah 5- 6,5 (Park dan Bullerman, 1983). Substrat dengan kadar karbohidrat yang tinggi akan menguntungkan pembentukan aflatoksin karena kemungkinan besar karbohidrat merupakan nutrisi terpenting dalam sintesa metabolit sekunder karena perannya dalam pembentukan asetil Co- A (Heathcote dan Hibbert, 1978).

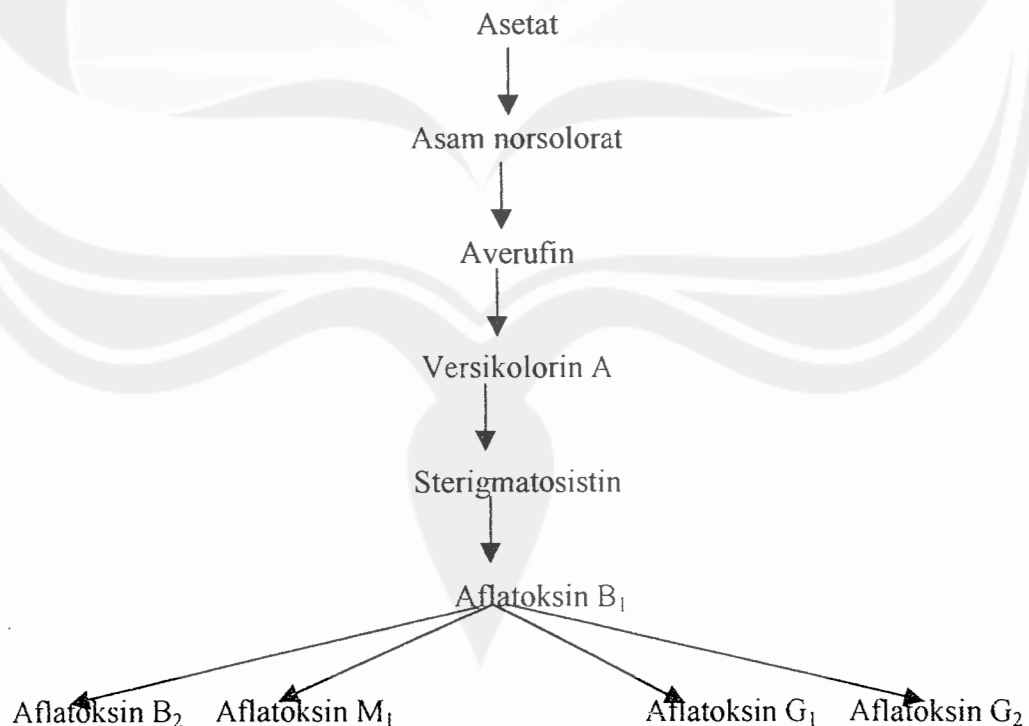
Rahayu dkk. (1989), Wibowo dan Ristanto (1988), menyatakan bahwa beberapa jamur dapat menghasilkan racun (mikotoksin) yang dapat mengganggu kesehatan manusia antara lain aflatoksin yang dihasilkan oleh *Aspergillus flavus*,

A. niger, *A. ochraceus*, yang menyebabkan gangguan pada hati sehingga mengakibatkan hepatoma atau karsinoma-hati. *Aspergillus* adalah fungi yang kemungkinan dapat menyebabkan infeksi paru-paru yang serius maupun penyakit yang tersebar pada penderita diabetes dan penderita leukemia atau limfoma (Volk and Wheeler, 1989). Melihat sifat aflatoksin yang berbahaya bagi manusia tersebut maka kelompok bersama FAO (*Federal Administration Organization*) atau WHO (*World Health Organization*) menetapkan nilai 30 ppb (30 mg/kg) sebagai nilai maksimum untuk kandungan aflatoksin total ($B_1+B_2+G_1+G_2$) walaupun jumlah yang masih dianggap aman bagi konsumsi manusia secara tepat belum diketahui. FDA (*Federal Drug Administration*) di Amerika Serikat menetapkan angka yang lebih rendah lagi yaitu 20 ppb untuk makanan ternak dan 15 ppb untuk konsumsi manusia (Frazier dan Westhoff, 1988).

E. Biosintesis Aflatoksin

Garis besar biosintesis aflatoksin adalah sebagai berikut: pada akhir fase pertumbuhan eksponensial, jumlah N dan P sangat berkurang, diikuti dengan penghambatan sintesa asam nukleat dan protein. Asam alpha keto, terutama asam piruvat terakumulasi dan dalam jumlah tertentu bersifat toksis, sehingga menghambat pertumbuhan dan pembelahan sel. Selama fase transisi yaitu perubahan dari fase pertumbuhan eksponensial menuju fase pertumbuhan stasioner, sintesa-sintesa asam nukleat, lipid dan protein berlangsung lambat. Enzim-enzim yang berperan dalam biosintesis aflatoksin tidak aktif pada fase transisi ini, sedangkan aktifitas siklus Krebs berlangsung terus dan mencapai maksimum pada akhir fase transisi.

Setelah akumulasi piruvat ataupun senyawa antara yang lain sampai pada tingkatan yang bersifat toksis, jamur mulai masuk fase pertumbuhan stasioner. Pada periode inilah mulai terjadi pembentukan aflatoksin dan senyawa lipid. Langkah pertama dalam biosintesis aflatoksin adalah penggabungan antara 1 mol asetil Co-A dengan 9 malonil Co-A membentuk C_{20} poliketida atau poli hidroksi anthraquinon yang menurunkan nonaketida tunggal seperti asam norsolorat, yang kemudian diubah menjadi averufin. Langkah berikutnya adalah perubahan averufin menjadi versikolorin A melalui beberapa tahapan reaksi. Dengan melalui pembentukan sterigmatosystin, versikolorin A diubah menjadi aflatoksin B_1 (Buchi dkk. 1970 dalam Makfoeld, 1993 dan Achadiyah dkk. 1989). Skema biosintesis aflatoksin dapat terlihat sebagai berikut:



Gambar 2. Jalur Biosintesis Aflatoksin

Penentuan struktur aflatoksin dalam tahun enam puluhan dapat terlaksana berkat adanya cara pemurnian dan penentuan bahan kimia yang relatif baru yaitu cara kromatografi. Dalam cara ini sampel yang diperkirakan terkontaminasi oleh aflatoksin diekstraksi dengan solven dan kemudian ditotolkan pada permukaan lapis tipis dari serbuk silika gel. Campuran solven lain dipakai sebagai fase bergerak yang mendorong totolan sampel, sehingga komponen-komponennya terpisah oleh karena kecepatan gerak yang tidak sama. Adanya aflatoksin dapat ditunjukkan dengan sinar ultraviolet, senyawa aflatoksin ini bersifat fluoresensi (dapat menyerap sinar dengan panjang gelombang pendek yang tidak nampak menjadi sinar dengan panjang gelombang lebih panjang sehingga nampak). Kromatografi lapis tipis sering dipakai untuk menentukan adanya aflatoksin secara kualitatif (Sudarmadji dan Kuswanto, 1998).

Kromatografi lapis tipis banyak digunakan dalam usaha penentuan aflatoksin karena memiliki beberapa kelebihan yaitu sederhana dan murah. Kelebihan lain adalah cara menyiapkan cuplikan mudah dan menggunakan bahan sekali pakai, yaitu plat lapis tipis, sejumlah cuplikan dapat dianalisis sekaligus pada waktu dan kondisi yang sama, analisis kuantitatif dapat diulangi terhadap plat yang sama karena plat kromatografi lapis tipis bisa disimpan, selain itu dapat dilakukan derivatisasi langsung terhadap noda (spot) setelah dikembangkan dengan eluen (Sugiharto, 1993).