



Study Of Kojic Acid Production In Endophytic Fungi And Application In Decay Prevention Tomato (*Lycopersicum Esculentum* L.)

Antonius R. B. Ola^{1*}, Luther Kadang¹, Dionisius Y. Bagung¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, Kupang

* Corresponding author, email: antonius.ola@staf.undana.ac.id

ABSTRACT

A study of kojic acid production in the endophytic fungi *Aspergillus flavus* was conducted to identify the effect of kojic acid on efforts to prevent decay and manage the quality of shelf life of tomato fruit (*Lycopersicum esculentum* L.). The kojic acid obtained showed good results in preventing tomato fruit spoilage. The organoleptic test results on the texture and aroma of tomato rot stated the highest favorability in the test treatment with kojic acid, namely in the treatment of tomato fruit stored by spraying 1% kojic acid. The ability of kojic acid to extend the shelf life of tomato fruit is seen from its antibacterial activity and is able to suppress the rate of respiration and transpiration in tomato fruit.

Keywords : Endophytic fungi, *Aspergillus flavus*, kojic acid.

ABSTRAK

Telah dilakukan kajian produksi asam kojat pada jamur endofit *Aspergillus flavus* untuk mengidentifikasi pengaruh asam kojat terhadap upaya pencegahan pembusukan dan manajemen kualitas daya simpan terhadap buah tomat (*Lycopersicum esculentum* L.). Asam kojat yang diperoleh menunjukkan hasil yang baik dalam pencegahan pembusukan buah tomat. Hasil uji organoleptik pada tekstur dan aroma busuk tomat menyatakan kesukaan paling tinggi pada perlakuan uji dengan asam kojat yaitu pada perlakuan buah tomat yang disimpan dengan penyemprotan asam kojat 1%. Kemampuan asam kojat dalam memperpanjang umur simpan buah tomat terlihat dari aktivitas antibakteri serta mampu menekan laju respirasi dan transpirasi pada buah tomat.

Kata kunci : Jamur endofit, *Aspergillus flavus*, asam kojat.

PENDAHULUAN

Bahan pangan di negara tropis rentan terhadap kerusakan dan pembusukan, yang diakibatkan oleh kondisi lembab dan panas sehingga mempercepat pertumbuhan mikroba patogen. Pada negara berkembang seperti Indonesia, pembusukan bahan pangan mencapai 60 hingga 70% yang menandakan bahwa masalah pangan perlu mendapat perhatian serius. Permasalahan tersebut dimulai dari produk ekspor Indonesia yang ditolak oleh negara tujuan karena tidak memenuhi persyaratan terkait mikroba patogen dan ditemukannya bahan pangan yang busuk selama ekspor. Untuk itu pengawetan bahan pangan tanpa bahan kimia berbahaya merupakan solusi yang tepat. Namun, hal ini juga harus diimbangi dengan kemampuan pengendalian mutu pangan dan pengelolaan hasil pangan secara benar dan tepat.

Pemanfaatan ekstrak tanaman dan mikroorganisme dengan kandungan metabolit sekunder yang bermanfaat menjadi alternatif utama dalam pengendalian mutu hasil pangan. Metabolit–metabolit sekunder ini dapat dieksplorasi secara maksimal dan dijadikan sebagai senyawa antijamur, antibakteri serta aktivitas biologis lainnya. Berdasarkan perspektif bioteknologi, metabolisme jamur mampu menarik perhatian kalangan komunitas ilmiah hingga sektor industri.

Salah satu jenis jamur dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan adalah *Aspergillus*. Lebih dari 58 spesies *Aspergillus*, terutama yang termasuk dalam bagian *Flavi*, telah dilaporkan sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder yakni asam kojat^[1].

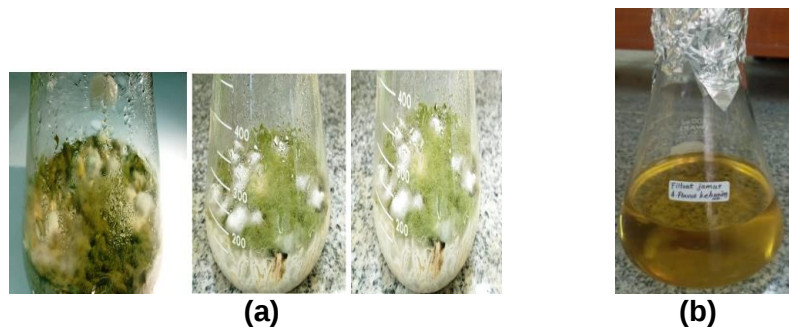
Asam kojat telah mendapatkan pengakuan di pasar karena potensi aplikasi yang beragam, dan banyak penelitian telah dilakukan untuk menilai toksisitas dan karsinogenisitas asam kojat untuk memverifikasi keamanan bagi manusia^{[2][3][4]}. Aktivitas antibakteri asam kojat mampu mencegah pembusukan makanan dengan cara menghambat pertumbuhan patogen sehingga dapat menunda timbulnya pembusukan makanan^[5]. Misalnya, efek antibakteri asam kojat telah diuji pada ikan yang didinginkan dimana asam kojat mampu memperpanjang umur simpan hingga 5 hari^[6]. Asam kojat memiliki banyak kegunaan dalam manajemen kualitas makanan sebagai antioksidan alami dan memperpanjang umur simpan beberapa produk makanan melalui tindakan pengawetan terhadap bahan kimia dan mikroba degradasi. Pada buah-buahan, asam kojat dapat menghambat pembentukan tirosinase dan menjadi agen anti pencoklatan. Pada buah leci, asam kojat tidak hanya menurunkan kandungan malondialdehida (MDA) dan hydrogen peroksida (H_2O_2) namun mampu mempertahankan sifat antikosidan selama penyimpanan^[7].

Peningkatan progress dampak positif dari asam kojat yang terus berkembang seiring berjalannya waktu, menyebabkan pentingnya pengembangan metode yang akan berkontribusi pada produksi asam kojat yang efektif. Salah satu metode pendekatan yang telah menarik perhatian untuk mengaktifkan jalur metabolisme yang dibatasi oleh metode tradisional agar mendapatkan produk metabolisme dengan berbagai macam struktur adalah metode OSMAC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Asam Kojat Jamur Endofit

Jamur endofit sensitif terhadap media kultur, oleh karenanya agar memperoleh senyawa bioaktif dari jamur endofit dengan biomassa yang lebih banyak, maka jamur endofit yang diremajakan perlu kultivasi ke dalam media yang lebih besar dengan kandungan nutrisi yang lebih banyak. Melalui pendekatan OSMAC, komposisi beras dan pemilihan wadah yang digunakan sebagai media dalam mengkultivasi jamur endofit berdampak pada profil metabolit sekunder dan juga jumlah produksi asam kojat jamur endofit *Aspergillus flavus*. Selama proses pertumbuhannya, jamur memerlukan sumber nutrisi dalam bentuk senyawa sederhana agar mudah diserap oleh miselium. Pada proses kultivasi, beras disterilisasi untuk menghilangkan kontaminan dan juga melunakkan media dalam hal ini mengubah beras menjadi nasi karena memiliki bentuk dan tekstur yang lembut sehingga dapat memberikan ruang kepada jamur untuk berkembang biak.

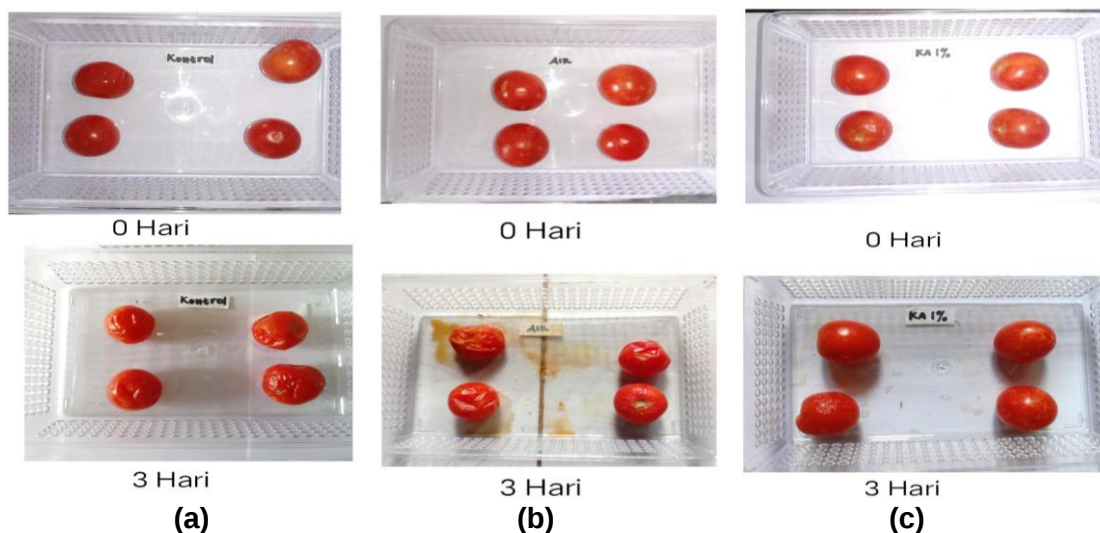


Gambar 1. Hasil kultivasi jamur *Aspergillus flavus* pada media setelah 30 hari (a) filtrat hasil maserasi jamur *A. flavus* (b)

Pada usia 30 hari, jamur telah tumbuh memenuhi seluruh media dan jamur yang dihasilkan berupa bubuk spora berwarna hijau kekuningan dan terlihat munculnya hifa seperti kapas putih pada permukaannya. Pada proses maserasi, perendaman sampel akan membuat terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etil asetat. Proses maserasi dilakukan selama 4 hari, agar waktu kontak pelarut dengan sampel semakin lama sehingga pelarut dapat menembusi dinding sel jamur dan senyawa aktif yang diekstrak semakin banyak. Maserat hasil penyaringan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C agar dapat memisahkan ekstrak murni dengan pelarut. Hasil evaporasi maserat diperoleh dalam bentuk ekstrak kental sebanyak 6,736 gram.

Uji Organoleptik Terhadap Buah Tomat

Berdasarkan data yang diperoleh dari penilaian panelis, kontrol menunjukkan nilai yang jauh lebih rendah sedangkan, buah yang disimpan dengan penyemprotan kojat menunjukkan skor yang lebih tinggi untuk parameter organoleptik tekstur dan aroma busuk selama 3 hari penyimpanan.



Gambar 2. Penyimpanan Tomat ; kontrol (a), perlakuan air (b), perlakuan asam kojat 1% (c)

Hasil uji mutu hedonik pada tekstur dan aroma busuk tomat menyatakan kesukaan paling tinggi pada perlakuan uji dengan asam kojat yaitu pada perlakuan buah tomat yang disimpan dengan penyemprotan asam kojat 1%.

Tabel 1. Penilaian panelis untuk parameter aroma busuk tomat

NO	PANELIS	UJI MUTU HEDONIK TOMAT		
		AROMA BUSUK		
		Kontrol (931)	AIR (872)	AK 1 % (973)
1	Maria haden	1	1	5
2	Tika mana	2	1	3
3	Ria bagung	1	1	5
4	Febi Deku	2	2	4
5	Iko dhosa	2	2	4
6	Fulgen Pela	1	2	4
7	Gayusia fanti	1	2	4
8	Lia uskono	1	2	3
	Jumlah	11	13	32

Tabel 2. Penilaian panelis untuk parameter tekstur tomat

NO	PANELIS	UJI MUTU HEDONIK TOMAT		
		TEKSTUR		
		Kontrol (931)	AIR(872)	AK 1 %(973)
1	Maria haden	2	1	3
2	Tika mana	2	1	3
3	Ria bagung	1	1	4
4	Febi Deku	1	2	3
5	Iko dhosa	2	2	4
6	Fulgen Pela	1	2	4
7	Gayusia fanti	1	2	4
8	Lia uskono	1	2	4
	Jumlah	11	13	29

Efek pengawetan asam kojat pada buah tomat dapat dilihat pada kulit tomat yang menjadi lebih tebal dan keras akibat aktivitas antibakteri asam kojat. Aktivitas antibakteri tersebut terjadi melalui mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel dan menginaktivasi enzim-enzim esensial atau materi genetik. Hal ini yang menyebabkan kemungkinan buah tomat yang disemprot memiliki tekstur sedikit lebih keras dibandingkan dengan buah tomat yang tidak semprot dengan asam kojat. Selain itu, seluruh buah pada perlakuan asam kojat 1% menunjukkan warna yang sehat dan cerah. Sebaliknya, pada kontrol dan perlakuan air yang mulai sehingga menimbulkan aroma yang tidak sedap dengan kulit yang lembek dan mudah hancur. Tekstur buah tomat melunak dan lembek saat terlalu matang diakibatkan oleh berkurangnya senyawa pektat yang disebut protopektin yang memberikan tekstur keras pada buah. Selama proses pematangan, senyawa ini secara bertahap akan diubah

menjadi pektin oleh enzim protopektinase sehingga tidak memberikan kekakuan atau kekerasan pada buah, yang mengakibatkan tekstur buah tomat menjadi lunak. Penilaian terhadap aroma busuk buah tomat penting karena dapat menjadi dasar penilaian minat konsumen terhadap hasil panen buah tomat^[8]. Aroma busuk yang dihasilkan oleh tomat pada kelompok kontrol diakibatkan oleh senyawa volatil yang terdapat pada sari buah semakin rusak dan hilang akibat kontak dengan panas^[9]. Hal ini juga disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme pembusuk seperti bakteri jamur. Mikroorganisme ini mengeluarkan enzim yang dapat menguraikan bahan tertentu menjadi zat lain, sehingga menghasilkan beberapa perubahan seperti bau busuk.

KESIMPULAN

Hasil uji mutu hedonik pada tekstur dan aroma busuk tomat menyatakan kesukaan paling tinggi pada perlakuan uji dengan asam kojat yaitu pada perlakuan buah tomat yang disimpan dengan penyemprotan asam kojat 1%. Asam kojat yang diperoleh memberikan hasil yang baik dalam pencegahan pembusukan buah tomat. Kemampuan asam kojat dalam memperpanjang umur simpan buah tomat terlihat dari aktivitas antibakteri serta mampu menekan laju respirasi dan transpirasi pada buah tomat.

DAFTAR PUSTAKA

1. El-Aziz, B.A. 2013. Improvement of kojic acid production by a mutant strain of *Aspergillus flavus*. *J. Nat. Sci. Res.* 3 (4):31-41.
2. Burnett, C.L., Bergfeld, W.F., Belsito, D.V., Hill, R.A., Klaassen, C.D., Liebler, D.C., et al. 2010. Final report of the safety assessment of kojic acid as used in cosmetics. *Int. J. Toxicol.* 29 (6):244S-273S.
3. Phasha, V., Senabe, J., Ndzotoyi, P., Okole, B., Fouche, G., Chuturgoon, A. 2022. Review on the Use of Kojic Acid A Skin-Lightening Ingredient. *Cosmetics*. 9: 1 – 11.
4. Zilles, J.C., dos Santos, F.L., Kulkamp-Guerreiro, I.C., Contri, R.V. 2022. Biological activities and safety data of kojic acid and its derivatives: A review. *Exp. Dermatol.* 30: 1500–1521.
5. Xing K, Chen XG, Lau CS, Cha DS, Park HJ. 2009. Oleoyl-chitosan nanoparticles inhibits *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by damaging the cell membrane and putative binding to extracellular or intracellular targets. *Int J Food Microbiol.* 132(3) :127-133.
6. Wang, R., Hu, X., Agyekumwaa, A. K., Li, X., Xiao, X., & Yu, Y. 2021. Synergistic effect of kojic acid and tea polyphenols on bacterial inhibition and quality maintenance of refrigerated sea bass (*Lateolabrax japonicus*) fillets. *LWT - Food Science and Technology*. 137 :110452.

7. Shah, H., Khan, A. S., & Ali, S. 2017. Pre-storage kojic acid application delays pericarp browning and maintains antioxidant activities of litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 130: 154–161.
8. Dewi, T., Amir, A., M., Elma, E. 2021. Mutu Hedonik Formula Isotonik Penambahan Gula Pasir Dan Gum Arab (Isotonic Formula Hedonic Quality Additional Sugar And Arabic Gum). *Media Gizi Pangan*. 28 :54-60.
9. Saragih, C., Herawati, N. and Efendi, R. (2017). Pembuatan Sirup Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) dengan Penambahan Sari Lemon (*Citrus limon* L.). *JOM FAPERTA UR*. 4 (1) :1-15.

METODOLOGI

Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Sebanyak 20 gram PDA dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan dengan 0,02 gram kloramfenikol kemudian dilarutkan dengan 500 mL aquades. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 30 menit. Hasil yang diperoleh kemudian dibiarkan dingin dan PDA dituangkan ke dalam cawan petri yang steril untuk dijadikan media.

Peremajaan Jamur Endofit

Peremajaan jamur endofit *Aspergillus flavus* dilakukan dengan diinkubasi pada suhu ruang ke dalam media PDA steril yang telah memadat. Jamur endofit *A. flavus* yang telah tumbuh pada media PDA lama dipotong dengan ukuran 0,5 × 0,5 cm, diletakkan ke dalam media PDA baru dengan posisi terbalik (permukaan jamur menyentuh media). Setiap cawan petri diletakkan 1 potong strain jamur. Cawan petri kemudian diisolasi dengan plastic wrap dan diinkubasi pada suhu ruang.

Produksi Asam Kojat Jamur Endofit

a. Pembuatan Media OSMAC

Sebanyak 50 gram beras dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 mL, kemudian ditambahkan 75 mL akuades. Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas steril dan aluminium foil. Selanjutnya disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, dengan tekanan 1,5 atm selama 30 menit, hingga seluruh beras berubah menjadi nasi.

b. Proses kultivasi

Jamur endofit murni dipotong menjadi 4 bagian, kemudian setiap bagiannya dipotong dengan ukuran 0,5 × 0,5 cm lalu dimasukkan 10-14 potongan ke dalam masing masing media beras yang telah disterilkan menggunakan autoklaf. Kemudian erlenmeyer ditutup menggunakan kapas steril dan aluminium foil lalu diisolasi menggunakan plastic wrap. Selanjutnya disimpan pada suhu ruang dan diamati pertumbuhan jamur selama 3-4 minggu.

Maserasi dan Evaporasi

Jamur hasil kultivasi yang telah tumbuh memenuhi media hingga bagian dasar erlenmeyer ditambahkan dengan 200 mL etil asetat lalu diaduk hingga tercampur. Selanjutnya didiamkan selama 4 hari kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi pada suhu 40 °C untuk memisahkan ekstrak dan pelarut.

Uji Organoleptik Terhadap Buah Tomat

a. Persiapan Larutan Asam Kojat

Ekstrak kental asam kojat, ditimbang 1 gram lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades untuk mendapatkan larutan asam kojat 1% (m/v).

b. Persiapan Buah Tomat

Tomat yang memiliki ukuran seragam dan tingkat matang sempurna (warna merah 90-100%), dipanen dari kebun sayur organik Baumata, Kab. Kupang. Pemanenan tomat dilakukan pada saat berumur 75 hari setelah penanaman bibit. Kriteria masak petik untuk tomat meliputi kulit buah berubah dari warna hijau menjadi merah, bagian tepi daun tua telah mengering, dan batang tanaman menguning/mengering. Pemanenan dilakukan satu – persatu dan dipilih buah yang siap petik. Tomat yang telah diseleksi karena keseragaman warna, ukuran dan bentuk, ditempatkan dalam *punnet packaging* untuk mencegah kerusakan selama pengangkutan, sebelum digunakan untuk eksperimen buah tomat disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 10-15°C.

c. Perlakuan dan kondisi penyimpanan

Percobaan dibagi menjadi 3 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 buah tomat, kelompok pertama diberi perlakuan dengan asam kojat (AK 1 %) dan kelompok kedua diberi perlakuan dengan air dan kelompok terakhir sebagai kontrol. Semprotkan secara merata pada permukaan tomat, letakkan di dalam wadah kaca berlubang lalu disimpan pada ruangan 25 °C selama 3 hari. Diamati pembusukan pada tomat melalui uji organoleptik untuk menilai tekstur dan aroma.

d. Uji Organoleptik (Uji Mutu Hedonik)

Kualitas daya simpan buah dinilai melalui uji panel (panelis adalah pelajar dan masyarakat awam berusia 17-32 tahun (baik laki-laki maupun perempuan). Sampel tomat yang berada dalam wadah ditandai dengan kode. Setiap panelis harus berada dalam keadaan sehat terlebih dahulu agar dapat memaksimalkan hasil pengujian. Hal yang harus dilakukan terhadap penilaian panelis adalah menilai aroma busuk dan tekstur pada tomat lalu mengkonversikan hasil uji dalam suatu skala numerik, (6 = amat sangat baik; 5 = sangat baik; 4 = baik; 3 = sedang; 2 = buruk; 1 = sangat buruk) hasil pengujian tersebut dapat ditabulasikan pada tabel. Penilaian terhadap aroma dilakukan dengan cara mencium aroma/bau dari buah tomat dan penilaian terhadap tekstur

tomat dilakukan dengan mengamati perubahan fisiologis dan menyentuh seluruh permukaan kulit buah tomat menggunakan indra peraba dari panelis