

## **Penilaian kualiti mikrobiologi ke atas minuman jus nanas untuk pemulihan atlet selepas bersukan** (Microbiological quality evaluation of pineapple juice drink for athlete's post sport recovery)

Raja Arief Deli Raja Nasharuddin, Wan Nur Zahidah Wan Zainon dan Hadijah Hassan

### **Pengenalan**

Buah-buahan sememangnya kaya dengan antioksidan, vitamin dan mineral yang penting bagi manusia serta memainkan peranan dalam pencegahan penyakit tidak berjangkit [*non communicable diseases* (NCD)] seperti sakit jantung, kanser dan diabetes. Minuman jus buah pula merupakan diet masa kini bagi kebanyakan pengguna disebabkan oleh rasanya yang sedap serta berkhasiat. Dalam aktiviti kajian ini, minuman jus nanas untuk pemulihan atlet dibangunkan untuk membantu pemulihan atlet selepas bersukan. Minuman jus ini yang merupakan gabungan buah nanas dan bahan semula jadi lain seperti madu dan limau kasturi adalah tinggi dengan karbohidrat, cecair dan sumber elektrolit yang dapat memastikan badan kembali bertenaga, terhidrasi semula dan membina semula tisu otot.

Minuman jus ini dibangunkan berdasarkan saranan pengambilan bromelain iaitu sebanyak 80 – 320 mg sehari bagi membantu pemulihan dan mengurangkan keradangan pada atlet. Sebatian yang dipanggil bromelain merupakan enzim utama dalam buah nanas dan mempunyai ciri-ciri antiinflamasi. Menurut kajian terdahulu, bromelain dikatakan mampu merawat bengkak selepas pembedahan. Laporan juga mengatakan bahawa bromelain membantu memecahkan tisu yang meradang serta boleh membantu mencegah kerosakan otot selepas bersenam.

Produk ini telah dibangunkan menggunakan nanas MD2 dengan indeks kematangan empat. Kajian awal yang telah dijalankan mendapati kandungan bromelain adalah paling tinggi dalam pulpa nanas pada indeks kematangan empat berbanding dengan indeks kematangan lain. Nanas MD2 gred C dicadangkan bagi tujuan pemprosesan minuman jus nanas kerana gred A dan B harganya lebih mahal dan digunakan untuk tujuan eksport. Didapati kandungan bromelain dalam 200 mL produk minuman jus ini adalah sebanyak 323 mg dan skor penilaian rasa enam daripada tujuh. Brix minuman jus ialah 17 dan pH 3.54. Produk ini dikategorikan sebagai rendah *Glycemic Index* (GI) dengan *estimated Glycemic Index* (eGI) 41.

Minuman jus buah mengandungi mikroflora yang lazim hadir pada permukaan buah semasa penuaian dan pemprosesan lepas tuai. Kebanyakan mikroorganisma seperti bakteria tahan asid dan yis serta kulat menggunakan nutrien dalam jus buah sebagai substrat bagi pertumbuhan. Selepas pemprosesan

minuman jus buah, keadaan pH yang berasid (<4.5) kebiasaannya mampu mengawal pertumbuhan kebanyakan bakteria perosak dan patogen. Kerosakan oleh mikroorganisma pada minuman jus nanas boleh menyebabkan penurunan kualiti produk seperti kehilangan kekeruhan stabil, penghasilan gas karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) serta perubahan ciri rasa, warna dan tekstur.

Bakteria perosak yang secara kebiasaannya hadir pada minuman jus buah yang bersifat berasid adalah daripada genera *Bacillus*, *Lactobacillus* dan koliform. Namun begitu, bakteria patogenik seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* juga mampu hidup dalam keadaan berasid ini disebabkan oleh faktor tindak balas tegasan asid. Kebanyakan penyakit bawaan makanan yang dilaporkan berlaku akibat pengambilan minuman jus buah adalah melibatkan produk yang tidak dipasteur. Selain itu, terdapat juga beberapa jenis yis daripada genera *Candida*, *Saccharomyces* dan *Rhodoturula* yang turut menyebabkan kerosakan terhadap minuman jus buah. Genera kulat seperti *Penicillium*, *Botrytis* dan *Aspergillus* turut dikaitkan sebagai penyebab kerosakan minuman jus buah. Spesies lain seperti *Aspergillus niger* dan *A. fumigatus* mampu menghasilkan mikotoksin seperti okratoksin, patulin dan *bysochalamic acid* yang akan menjejaskan kesihatan manusia pada jangka masa panjang.

Justeru, melihat kepada permintaan yang meningkat kepada minuman jus buah serta kepentingan aspek keselamatan makanan produk tersebut, objektif utama kajian ini adalah untuk menilai kualiti mikrobiologi bagi minuman jus nanas untuk pemulihan atlet selepas bersukan.

### **Penghasilan minuman jus nanas**

Pemprosesan produk minuman jus nanas telah dijalankan bermula dengan pemilihan buah di mana buah yang elok dan baik dipilih untuk diproses. Kemudian, buah dikupas kulit dan dibasuh dengan air bertapis sebelum dikisar menggunakan *industrial juicer* untuk mendapatkan jus nanas (*Gambar 1*). Kemudian ditapis menggunakan *industrial centrifuge* bagi menyingkirkan kandungan serat pada jus nanas. Jus nanas kemudian ditambah dengan bahan-bahan lain seperti jus limau kasturi, madu kelulut dan kondisioner makanan serta dipasteur pada suhu 70 °C selama 10 minit. Minuman jus nanas dibotolkan semasa masih panas ke dalam botol kaca 200 mL (*Gambar 2*). Selepas pembotolan, minuman jus nanas disimpan pada suhu penyimpanan berbeza (suhu bilik dan suhu sejuk) bagi tujuan analisis.

### **Analisis mikrobiologi**

Dalam kajian ini, analisis mikrobiologi minuman jus nanas dijalankan secepat mungkin di makmal mengikut jadual tempoh penyimpanan yang telah ditetapkan. Sejumlah 24 sampel telah dianalisis untuk menentukan kualiti mikrobiologi minuman



Gambar 1. Nanas yang telah dikupas dan dibasuh dikisar dengan menggunakan industrial juicer



Gambar 2. Minuman jus nanas dibotolkan semasa masih panas ke dalam botol kaca 200 mL

jus nanas. Kajian telah dilaksanakan bermula 5 September 2019 (kosong bulan) sehingga 5 Mac 2020 (enam bulan) pada dua suhu penyimpanan berbeza iaitu suhu bilik ( $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu sejuk ( $2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Dua sampel diambil daripada setiap suhu penyimpanan untuk dianalisis pada setiap bulan selama enam bulan. Dalam kajian ini, sampel diuji dengan analisis mikrobiologi melibatkan kiraan jumlah bakteria, kiraan jumlah yis dan kulat, kiraan koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* mengikut kaedah Wallas dan Thomas dengan sedikit pengubahsuaian yang dijalankan di dalam kabinet *biohazard*. Setiap pencairan dalam analisis juga dipiringkan secara duplikat.

Bagi tujuan penyediaan sampel homogen, sebanyak 10 mL sampel minuman jus diambil secara aseptik dan dicairkan dengan 90 mL larutan *Ringers* lalu diemparkan selama dua minit. Pencairan bersiri  $10^0 - 10^4$  kemudiannya telah dilakukan. Bagi analisis kiraan jumlah bakteria, sebanyak 1 mL sampel diambil daripada setiap pencairan dan dipindahkan ke dalam piring petri sebelum dicurahkan dengan *Plate Count Agar* (PCA) yang cair (suhu agar ditetapkan pada suhu  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) dan agar dibiarkan keras pada suhu bilik. Kesemua piring petri dieram di dalam inkubator pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama  $48\text{ jam} \pm 2\text{ jam}$ . Bagi analisis kiraan koliform dan *Escherichia coli*, sebanyak 1 mL sampel daripada setiap pencairan dan dipindahkan ke dalam 3M *Petrifilm* lalu dieram di dalam inkubator pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 24 – 48 jam  $\pm 2\text{ jam}$ .

Bagi analisis kiraan jumlah yis dan kulat pula, agar yang digunakan ialah *Malt Extract Agar* (MEA) yang telah ditambah

dengan 10% asid tartarik. Sementara itu, *Baird Parker Agar* (BPA) yang telah ditambah dengan *Egg Yolk Tellurite Emulsion* dan *Bacillus Cereus Agar* (BCA), masing-masing telah digunakan dalam analisis *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*. Sebanyak 0.1 mL sampel daripada setiap pencairan dipindahkan ke dalam piring petri yang telah dituang agar keras (*solidified*). Kemudian, sampel diratakan di atas agar keras dengan menggunakan kaca perebak yang steril. Kesemua piring petri dieram di dalam inkubator pada suhu  $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  untuk pertumbuhan yis dan kulat selama 72 jam  $\pm 2$  jam manakala pengeraman pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  bagi pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* masing-masing selama 48 jam  $\pm 2$  jam.

### Hasil analisis mikrobiologi minuman jus nanas

Analisis mikrobiologi (*Gambar 3*) menunjukkan sampel minuman jus nanas mencatatkan nilai Kiraan Jumlah Bakteria (TPC) yang memuaskan sehingga bulan keenam bagi penyimpanan pada suhu bilik dan suhu sejuk. TPC merupakan penanda aras kualiti makanan bagi sesuatu produk. Ia memberikan maklumat penting berkenaan kualiti umum serta potensi kerosakan produk daripada pengeluaran sehinggalah penyimpanan. Walaupun TPC bukanlah menjadi keutamaan dalam analisis risiko, namun julat mikrobiologi TPC boleh dianalisis bersama Kiraan Yis dan Kulat (Y&M) bagi menentukan tempoh umum jangka hayat sesuatu produk makanan. Dalam kajian ini, aras bacaan mikrobiologi bagi minuman jus nanas dirujuk kepada piawaian *Microbiological Guidelines for Food* (*Centre for Food Safety Hong Kong*) dan

*Compendium of Microbiological Criteria for Food* (*Food Standards Australia New Zealand*) (*Jadual 1*) berikutan Akta Makanan 1983 masih belum mempunyai rujukan khusus bagi kategori minuman jus nanas. *Jadual 2* menunjukkan kiraan jumlah bakteria (TPC), kiraan jumlah yis dan kulat (Y&M), analisis kiraan koliform, analisis *Staphylococcus aureus* dan analisis *Bacillus cereus* dalam minuman jus nanas selama enam bulan penyimpanan pada dua suhu berbeza.

Bacaan TPC dan Y&M bagi produk minuman jus buah dalam kajian ini adalah sangat memuaskan sehingga bulan keenam bagi penyimpanan suhu bilik dan suhu sejuk kerana nilai TPC yang memuaskan (*Satisfactory*) adalah pada nilai kurang  $10^4$  cfu/mL sebagaimana yang dinyatakan oleh kedua-dua standard yang dirujuk. Aras koliform pula digunakan sebagai indikator umum status



*Gambar 3. Analisis mikrobiologi yang dijalankan pada minuman jus nanas*

kebersihan sesuatu makanan. Kehadiran koliform dalam produk yang telah diberi rawatan haba dapat menjadi petunjuk proses memasak yang tidak sempurna atau telah berlaku pencemaran selepas pemprosesan. Bagi analisis kiraan koliform, sampel menunjukkan bacaan yang memuaskan sehingga bulan keenam bagi penyimpanan suhu bilik dan suhu sejuk. Di samping itu, sampel minuman jus nanas didapati tidak mengandungi *Escherichia coli* iaitu sejenis mikroorganisma indikator kekotoran di sepanjang tempoh penyimpanan. Ini adalah penanda yang baik bagi kebersihan produk kerana kehadiran *E. coli* akan menunjukkan pencemaran melalui najis secara langsung atau tidak langsung.

Patogen bawaan makanan lain yang dikaji dalam minuman jus nanas ialah *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* sepanjang tempoh kajian. Jika patogen ini wujud, ia mampu membawa simptom keracunan makanan seperti pening dan muntah, cirit-birit serta dehidrasi. *S. aureus* telah dikesan pada bulan ketiga hingga keenam namun pada nilai yang sangat rendah ( $<25 \times 10$  cfu/mL) bagi penyimpanan suhu bilik manakala tiada kehadiran *S. aureus* dikesan pada sampel penyimpanan suhu sejuk. Walau bagaimanapun, produk ini masih boleh dianggap selamat kerana nilai ini secara amnya sangat rendah untuk menyebabkan keracunan makanan. Julat memuaskan bagi *S. aureus* mengikut piawaian Hong Kong menetapkan *Satisfactory* ( $<20$  cfu/mL) dan *Borderline* ( $20 - \leq 10^4$  cfu/mL) manakala piawaian Australia dan New Zealand menetapkan *Satisfactory* ( $<10^2$  cfu/mL). Bakteria *Bacillus cereus* pula merupakan bakteria yang mampu tumbuh pada minuman berasid dan mengeluarkan spora. Faktor-faktor kehadiran bakteria ini dalam produk makanan mungkin berlaku akibat pencemaran silang dan faktor pendedahan kepada persekitaran (mesin, tanah, habuk udara atau pestisid). Faktor pemprosesan seperti nilai pH, suhu penyimpanan serta kepekatan bahan pengawet yang digunakan

Jadual 1. Had kandungan mikrobiologi mengikut piawaian antarabangsa

Kategori makanan	Minuman jus nanas		Microbiological Guidelines for Food (Centre for Food Safety Hong Kong)		Compendium of Microbiological Criteria for Food (Food Standards Australia New Zealand)		
	Satisfactory	Borderline	Unsatisfactory	Satisfactory	Marginal	Unsatisfactory	Potentially hazardous
Rujukan utama /kaedah							
Had kandungan mikrobiologi	Colony forming unit (cfu/mL)			Colony forming unit (cfu/mL)			
Kiraan jumlah bakteria	$<10^4$	$10^4 - <10^7$	$\geq 10^7$	$<10^4$	$10^4 - <10^6$	$\geq 10^6$	-
Kiraan koliform	$<10^2$	$10^2 - \leq 10^4$	$>10^4$	$<10^2$	$10^2 - 10^4$	$>10^4$	-
<i>Escherichia coli</i>	$<20$	$20 - \leq 10^2$	$>10^2$	$<3$	$3 - <10^2$	$>10^2$	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	$<20$	$20 - \leq 10^4$	$>10^4$	$<10^2$	$10^2 - <10^3$	$10^3 - \leq 10^4$	$>10^4$
<i>Bacillus cereus</i>	$<10^3$	$10^3 - \leq 10^5$	$>10^5$	$<10^2$	$10^2 - <10^3$	$10^3 - \leq 10^5$	$>10^5$

Jadual 2. Bacaan kandungan mikrobiologi minuman jus nanas untuk pemulihan atlet selepas bersukan sepanjang tempoh penyimpanan enam bulan pada dua suhu berbeza

Jangka hayat	Kod sampel	Kiraan jumlah bakteria (cfu/mL)	Kiraan jumlah yis dan kulat (cfu/mL)	Kiraan koliform* (cfu/mL)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cfu/mL)	<i>Bacillus cereus</i> (cfu/mL)
Bulan 0	A1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	A2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
Bulan 1	A1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	A2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
Bulan 2	A1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	A2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<15 x 10
	B1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
Bulan 3	A1	<25	<1 x 10	<25	<25 x 10	<1 x 10
	A2	<25	<1 x 10	<25	<25 x 10	<15 x 10
	B1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
Bulan 4	A1	<25	<1 x 10	<25	<25 x 10	<15 x 10
	A2	<25	<1 x 10	<25	<25 x 10	<15 x 10
	B1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
Bulan 5	A1	<25	<1 x 10	<25	<25 x 10	<15 x 10
	A2	<25	<1 x 10	<25	<25 x 10	<15 x 10
	B1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
Bulan 6	A1	<25	<1 x 10	<25	<25 x 10	<15 x 10
	A2	<25	<1 x 10	<25	<25 x 10	<15 x 10
	B1	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10
	B2	<1	<1 x 10	<1	<1 x 10	<1 x 10

Nota: A = Penyimpanan suhu bilik, B = Penyimpanan suhu sejuk, \*Tiada pertumbuhan *Escherichia coli*

turut menyumbang kepada kehadiran *B. cereus*. Dalam kajian ini, *B. cereus* telah dikesan pada bulan kedua hingga keenam bagi penyimpanan suhu bilik pada nilai <15 x 10 cfu/mL, manakala tiada pertumbuhan *B. cereus* pada penyimpanan suhu sejuk dikesan sepanjang kajian. Ia masih dalam julat memuaskan dan terkawal bertepatan dengan piawaian Hong Kong menetapkan *Satisfactory* pada nilai <10<sup>3</sup> cfu/mL manakala mengikut piawaian Australia dan New Zealand, *Satisfactory* pada nilai <10<sup>2</sup> cfu/mL.

Berdasarkan piawaian antarabangsa, data diperoleh menunjukkan minuman jus nanas sesuai dan selamat diminum oleh pengguna. Secara purata, sampel penyimpanan suhu sejuk

mencatatkan bacaan mikrobiologi yang lebih baik berbanding dengan penyimpanan suhu bilik iaitu tiada pertumbuhan bakteria perosak dan bakteria patogen sepanjang kajian penyimpanan selama enam bulan. Hal ini mungkin disebabkan oleh sinergi penyimpanan pada suhu sejuk serta faktor pempasteuran dan bahan pengawet yang bersesuaian.

### **Kesimpulan**

Secara keseluruhannya, analisis mikrobiologi telah menunjukkan sampel minuman jus nanas untuk pemulihan atlet selepas bersukan adalah dalam keadaan yang memuaskan sepanjang tempoh enam bulan penyimpanan pada suhu bilik dan suhu sejuk. Namun, kaedah penyimpanan suhu sejuk mencatatkan kiraan mikrobiologi yang lebih rendah berbanding dengan penyimpanan suhu bilik. Kajian penyimpanan ini juga menunjukkan jangka hayat produk minuman jus buah ini adalah selamat diminum dalam tempoh enam bulan. Kajian penyimpanan ini boleh dilanjutkan sehingga setahun bagi tujuan data tambahan untuk penentuan jangka hayat yang lebih lama.

### **Penghargaan**

Pengarang merakamkan ucapan terima kasih kepada pasukan penyelidik yang telah terlibat dalam kajian ini termasuklah kakitangan makmal iaitu Munirah Abdul Zaman dan Norhida Arnieza Muhsin. Projek ini disokong oleh Geran P-RF405 (Projek Pembangunan Bio-Ingredien dan Produk Fungsian Bernilai Tinggi bagi Buah-Buahan Premium).

### **Bibliografi**

- Compendium of Microbiological Criteria for Food (2016). Food Standards Australia New Zealand (FSANZ), Section 1, Table 1 – 3
- Kamal, R.A., Romika, D., Neeraj, K.A., Vikas, K. dan Manpreet, K. (2014). Microbes associated with freshly prepared juices of citrus and carrots. *International Journal of Food Science* Vol. 14
- Microbiological Guidelines for Food (2014). For ready-to-eat food in general and specific food items. Centre for Food Safety, Queensway, Hong Kong, Chapter 2, Table 1.2 dan 2.1
- Ogodo, A.C., Ugbo, O.C., Ekeleme, U.G. dan Nwachukwu, N.O. (2016). Microbial Quality of Commercially Packed Fruit Juices in South-East Nigeria. *Journal of Basic and Applied Research* 2(3): 240 – 245
- Sulaiman, O.A. (2016). Microbiological quality and safety of energy drink available in the local markets in Saudi Arabia. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics* 5(4): 287 – 289
- Wallace, H.A. dan Thomas, H.A. (1998). *Bacteriological Analytical Manual* Edition 8, Revision A, Chapter 1
- World Health Organization (WHO) (2014). Initiative to estimate the global burden of foodborne diseases: Information and publications. Geneva: WHO

### **Ringkasan**

Kajian ini dilaksanakan bagi membuat penilaian mikrobiologi terhadap minuman jus nanas untuk pemulihan atlet selepas bersukan. Berdasarkan hasil analisis mikrobiologi dan mengikut piawaian antarabangsa, didapati minuman jus nanas yang dihasilkan adalah selamat untuk diminum sepanjang tempoh penyimpanan enam bulan dan menunjukkan kualiti mikrobiologi yang lebih baik pada penyimpanan suhu sejuk. Input mikrobiologi sangat penting dari sudut keselamatan makanan bagi menembusi pasaran komersial.

### **Summary**

This study aimed for the microbiological evaluation of pineapple juice drink for athlete's post sport recovery. Based on microbiology analysis done and followed the international standard, the pineapple juice drink was safe to drink within six months of storage and showed better microbiological quality at chilled temperature storage. Microbiological input is very essential in term of food safety to penetrate commercial market.

### **Pengarang**

Raja Arief Deli Raja Nasharuddin  
Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor  
E-mel: del@mardi.gov.my

Wan Nur Zahidah Wan Zainon dan Hadijah Hassan (Dr.)  
Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor