

F/TPG/1992/064
#

PENGARUH KONSENTRASI AFLATOKSIN DAN KONTAMINAN
Aspergillus flavus NRRL 4098 SELAMA TAHAP PERMENTASI
BUNGKIL KACANG TANAH OLEH *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710
TERHADAP KANDUNGAN AFLATOKSIN

Oleh

BAMBANG SETIYADI

F 23.0423



1 9 9 2

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

B O G O R



Bambang Setiyadi. F 23.0423. Pengaruh Konsentrasi Aflatoksin dan Kontaminan *Aspergillus flavus* NRRL 4098 Selama Tahap Fermentasi Bungkil Kacang Tanah Oleh *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 Terhadap Kandungan Aflatoksin. Dibawah bimbingan Srikandi Fardiaz.

RINGKASAN

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui laju destruksi aflatoksin selama fermentasi bungkil kacang tanah, berdasarkan pengaruh konsentrasi kontaminan *Aspergillus flavus*. Kontaminasi *Aspergillus flavus* pada saat inokulasi *R. oligosporus* 10^6 spora/ml, disetiap perlakuan kontaminasi (10^2 , 10^4 , 10^6 , dan 10^8 spora/ml) mempunyai pola yang hampir sama, yaitu kandungan aflatoksin meningkat pada fermentasi 24 jam dan selanjutnya menurun pada fermentasi 36 jam sampai 60 jam.

Kandungan aflatoksin akhir untuk kontaminasi *Aspergillus flavus* 10^2 spora/ml adalah 12.09%, kontaminasi 10^4 spora/ml adalah 10.78%, kontaminasi 10^6 spora/ml adalah 19.22%, dan kontaminasi 10^8 adalah 20.84% dari kandungan awalnya. Reduksi aflatoksin akan semakin kecil, jika konsentrasi *Aspergillus flavus* lebih dari 10^4 spora/ml.

Laju destruksi aflatoksin pada bungkil kacang tanah mentah yang disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit untuk aflatoksin G_2 sebesar 9.6%, G_1 sebesar 9.0 %, B_2 sebesar 10.3%, dan B_1 20.0%. Laju destruksi aflatoksin ini tergantung dari kadar aflatoksin awalnya.



**PENGARUH KONSENTRASI AFLATOKSIN DAN KONTAMINAN
Aspergillus flavus NRRL 4098 SELAMA TAHAP FERMENTASI
BUNGKIL KACANG TANAH OLEH *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710
TERHADAP KANDUNGAN AFLATOKSIN**

Oleh :

BAMBANG SETIYADI

F 23.0423

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar **SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**
pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

**JURUSAN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

1992



Hak Cipta dilindungi Undang-undang
Larangan mengutip sebagian atau seluruhnya secara bebas untuk disebarluaskan dan diperjualbelikan kembali
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan buku atau tulisan untuk keperluan
b. Pengutipan tidak diperkenankan untuk tujuan yang komersial atau untuk keuntungan pribadi
c. Larangan mengutipkan dan menyalin kembali ke dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University

INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

PENGARUH KONSENTRASI AFLATOKSIN DAN KONTAMINAN
Aspergillus flavus NRRL 4098 SELAMA TAHAP FERMENTASI
BUNGKIL KACANG TANAH OLEH *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710
TERHADAP KANDUNGAN AFLATOKSIN

SKRIPSI

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Oleh :

BAMBANG SETYADI

F 23.0423

Dilahirkan pada tanggal 19 Oktober 1967

di Jakarta

Tanggal Lulus : 25 Mei 1992

disetujui

Bogor, / Juni 1992



Srikandi Fardiaz
Dr. Ir. Srikandi Fardiaz, MSc.

Dosen Pembimbing

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Esa, karena berkat rahmat-Nyalah penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Srikandi Fardiaz, MSc. selaku dosen pembimbing, yang telah memberikan bimbingan dan pengarahannya selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Dr. Ir. Sri Laksmi S., MS. dan Ir. Nuri Andarwulan yang telah meluangkan waktunya sebagai dosen penguji.
3. Albertus Wijanadi (Didied), Nurdi Darwis dan Vita N.A. atas bantuan dan kerjasamanya selama penelitian berlangsung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik kearah perbaikan akan sangat berguna.

Bogor, Juni 1992

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

	KATA PENGANTAR	i
	DAFTAR ISI	ii
	DAFTAR TABEL	v
	DAFTAR GAMBAR	vi
	DAFTAR LAMPIRAN	viii
I.	PENDAHULUAN	1
II.	TINJAUAN PUSTAKA	4
	A. PRODUKSI AFLATOKSIN	4
	B. STRUKTUR AFLATOKSIN	8
	C. AKTIVITAS BIOLOGIS AFLATOKSIN	10
	1. Efek racun	10
	2. Karsinogenik	11
	3. Mutagenik	11
	4. Teratogenik	12
	D. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PRODUKSI AFLATOKSIN PADA SUBSTRAT ALAMI	12
	E. ONCOM HITAM	15
	F. KONTAMINASI AFLATOKSIN PADA KACANG TANAH DAN HASIL OLAHANNYA	19
III.	BAHAN DAN METODE PENELITIAN	21
	A. BAHAN	21
	1. Kapang	21
	2. Bungkil Kacang Tanah dan Tapioka	21

4.	Kondisi Analisis Aflatoksin	48
B.	PENELITIAN UTAMA	52
1.	Standar Aflatoksin	52
2.	Kandungan Aflatoksin Contoh	52
3.	Bungkil Kacang Tanah Mentah	64
4.	Proses Sterilisasi	65
5.	Proses Fermentasi	67
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	71
VI.	DAFTAR PUSTAKA	73

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1.	Toksisitas Aflatoksin pada Anak Bebek	10
Tabel 2.	Kapang Yang Memproduksi Aflatoksin Secara in-vitro	13
Tabel 3.	Komposisi Zat Gizi Bungkil Kacang Tanah per 100 gram	15
Tabel 4.	Kandungan Aflatoksin Pada Kacang Tanah dan Hasil Olahannya	20

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.	Struktur morfologi kapang <i>Aspergillus flavus</i>	5
Gambar 2.	Proses biosintesis aflatoksin oleh <i>Aspergillus flavus</i>	7
Gambar 3.	Struktur aflatoksin	9
Gambar 4.	Bentuk morfologis kapang <i>Rhizopus oligosporus</i>	16
Gambar 5.	Persiapan slide culture	26
Gambar 6.	Hemasitometer	28
Gambar 7.	Proses pembuatan oncom	30
Gambar 8.	Bagan proses kontaminasi <i>A. flavus</i>	32
Gambar 9.	Proses ekstraksi aflatoksin	33
Gambar 10.	Kapang berwarna hijau kekuningan yang diisolasi dari bungkil kacang tanah	39
Gambar 11.	Bentuk morfologis kapang kuning kehijauan	40
Gambar 12.	Kapang hitam yang diisolasi dari bungkil kacang tanah	41
Gambar 13.	Bentuk morfologis kapang kehitaman	41
Gambar 14.	Hasil keluaran kromatogram	51
Gambar 15.	Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom kontrol	53
Gambar 16.	Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom kontrol	53
Gambar 17.	Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom 1'	54

Gambar 18.	Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom 1	54
Gambar 19.	Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom 2	55
Gambar 20.	Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom 2	55
Gambar 21.	Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom 3	56
Gambar 22.	Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom 3	56
Gambar 23.	Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom 4	57
Gambar 24.	Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom 4	57
Gambar 25.	Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom 5	60
Gambar 26.	Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom 5	60
Gambar 27.	Pengaruh kontaminasi <i>A. flavus</i> terhadap kandungan aflatoksin selama tahap fermentasi oncom	68

I. PENDAHULUAN

Salah satu jenis mikotoksin yang cukup terkenal adalah aflatoksin, yang merupakan produk metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus flavus* dan banyak mengkontaminasi bahan makanan, terutama kacang tanah dan hasil olahannya.

Dari berbagai percobaan yang dilakukan oleh para ahli, Muhilal (1971) melaporkan bahwa akibat keracunan aflatoksin dapat dibagi dalam dua katagori ; pertama adalah terjadinya kerusakan hati akut dengan "duct hyperolasia" yang umumnya diikuti dengan kematian dalam jangka pendek, yang terjadi bila aflatoksin dikonsumsi dalam jumlah besar setiap hari ; dan kedua bila jumlah aflatoksin yang dikonsumsi sedikit dalam jangka waktu panjang akan menimbulkan kanker hati. Justru hal kedua inilah yang menurut dugaan para ahli harus mendapat perhatian karena lebih besar kemungkinannya terjadi pada manusia.

Sebagian besar hasil olahan kacang tanah tercemar aflatoksin dan yang paling tinggi ditemui pada bungkil kacang tanah. Oncom adalah hasil fermentasi substrat bungkil kacang tanah atau ampas tahu yang menggunakan kapang *Neurospora sitophilla* (oncom merah) dan *Rhizopus oligosporus* (oncom hitam).

Pada kontaminasi 16 jam sebelum proses maupun kontaminasi pada saat inokulasi kapang oncom merah pada penelitian Edi (1988) didapat hasil yang hampir sama.

Proses perendaman dan pengukusan bungkil yang dilakukan dapat menurunkan kandungan aflatoksin B₁ dan B₂ dengan kisaran 50-57 persen dari kandungan awal (Edi, 1988). Tahap-tahap proses fermentasi dalam pembuatan oncom dari bungkil kacang tanah dengan menggunakan *Neurospora sitophilla* dapat menurunkan kedua jenis aflatoksin tersebut sekitar 77 persen tanpa kontaminasi *Aspergillus flavus*. Sedangkan kontaminasi *Aspergillus flavus* sebelum maupun selama proses fermentasi akan meningkatkan kandungan aflatoksin sampai pengamatan 24 jam dan akhirnya menurun pada pengamatan 48 jam.

Dari hasil penelitian Wulan (1990) dengan menggunakan oncom hitam, didapatkan bahwa dari semua taraf perlakuan kandungan aflatoksin menurun akibat perendaman bungkil kacang tanah, rata-rata menjadi 37.97 persen dari kandungan semula. Tanpa perlakuan kontaminasi *Aspergillus flavus*, kandungan aflatoksin menjadi 45.09 persen dari kandungan semula. Jika kontaminasi bungkil kacang tanah mentah dilakukan sebelum proses, kandungan aflatoksin pada contoh akhir menjadi 13.4 persen dari kandungan semula, sedangkan jika kontaminasi dilakukan pada saat inokulasi *Rhizopus oligosporus*, kandungan aflatoksin menjadi 14.55 persen dari kandungan semula.



Kedua jenis oncom ini merupakan produk fermentasi yang banyak disukai orang dan umumnya lebih banyak dikonsumsi oleh masyarakat yang rendah tingkat sosial ekonominya karena harganya murah. Cemaran aflatoksin pada oncom berasal dari aflatoksin yang mencemari bungkil kacang tanahnya. Karena itu penelitian terhadap produk kacang tanah makanan yang besar kemungkinannya tercemar aflatoksin harus diperhatikan mengingat bahaya yang ditimbulkannya.

Penelitian dilakukan untuk mempelajari pengaruh konsentrasi kontaminan *Aspergillus flavus* dan inokulum kapang *Rhizopus oligosporus* terhadap kandungan aflatoksin selama tahap-tahap fermentasi bungkil kacang tanah (oncom hitam).

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. PRODUKSI AFLATOKSIN

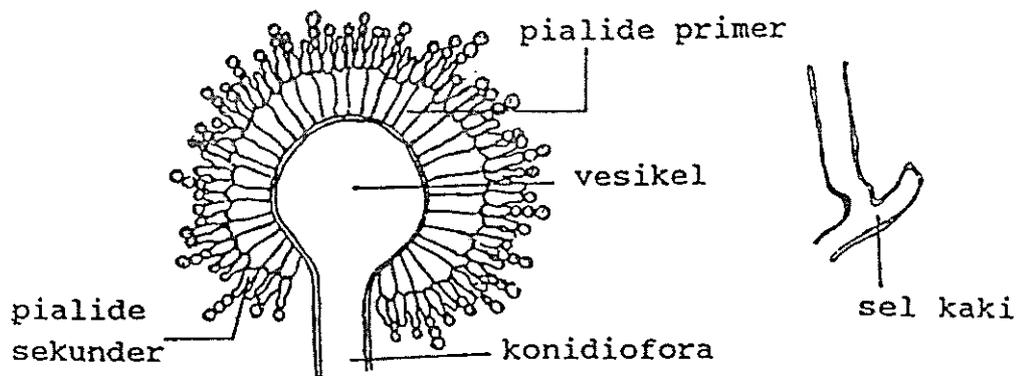
Aflatoksin adalah produk metabolisme sekunder yang dihasilkan dari kapang *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* dan merupakan salah satu jenis mikotoksin yang mempunyai pengaruh biologis terhadap makhluk hidup yang mengkonsumsinya, terutama hewan dan manusia. Berbeda dengan toksin yang dihasilkan oleh bakteri, mikotoksin ini kadang-kadang tidak menimbulkan gejala yang bersifat akut, tetapi kelainan yang ditimbulkannya adalah akibat akumulasi karena mengkontaminasi mikotoksin secara berulang-ulang dalam suatu periode tertentu (Fardiaz, 1987).

Kelompok kapang *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* sangat berperan dalam kerusakan selama penyimpanan gandum, beras, jagung, barlei, biji kapas, tepung, kacang tanah, dan kacang kedele serta hasil olahannya. Kelompok kapang ini dapat ditemukan di tanah, udara, serta tumbuh pada tanaman hidup maupun mati sebagai saprofit (Diener dan Davis, 1969).

Hak Cipta Ditanggung Jawab Undang-Undang
1. Orang yang menggunakan hak cipta ini harus mencantumkan dan mempedulikan sumber
2. Tidak diperbolehkan untuk menyalin, mendistribusikan, atau melakukan tindakan lain yang melanggar hak cipta ini
3. Penggunaan hak cipta ini tidak boleh untuk tujuan komersial atau untuk tujuan lain yang melanggar hak cipta ini
4. Hak cipta ini tidak boleh digunakan untuk tujuan lain yang melanggar hak cipta ini
5. Hak cipta ini tidak boleh digunakan untuk tujuan lain yang melanggar hak cipta ini

Aspergillus flavus termasuk dalam divisio Thallophyta, subdivisio Deuteromycotina, kelas fungi imperfecti (kapang tidak sempurna), ordo Moniliales dan genus *Aspergillus* (Frazier dan Westhoff, 1978).

Ciri-ciri spesifik dari kapang ini adalah hifa septat, miselium bercabang, biasanya tidak berwarna, yang terdapat di bawah permukaan merupakan hifa vegetatif, sedangkan yang muncul di permukaan merupakan hifa fertil. Konidiofora membengkak menjadi vesikel pada ujungnya, membawa sterigmata dimana tumbuh konidia. Konidia membentuk rantai yang berwarna hijau coklat atau hitam. Beberapa dapat tumbuh baik pada suhu 37°C atau lebih (Gambar 1).



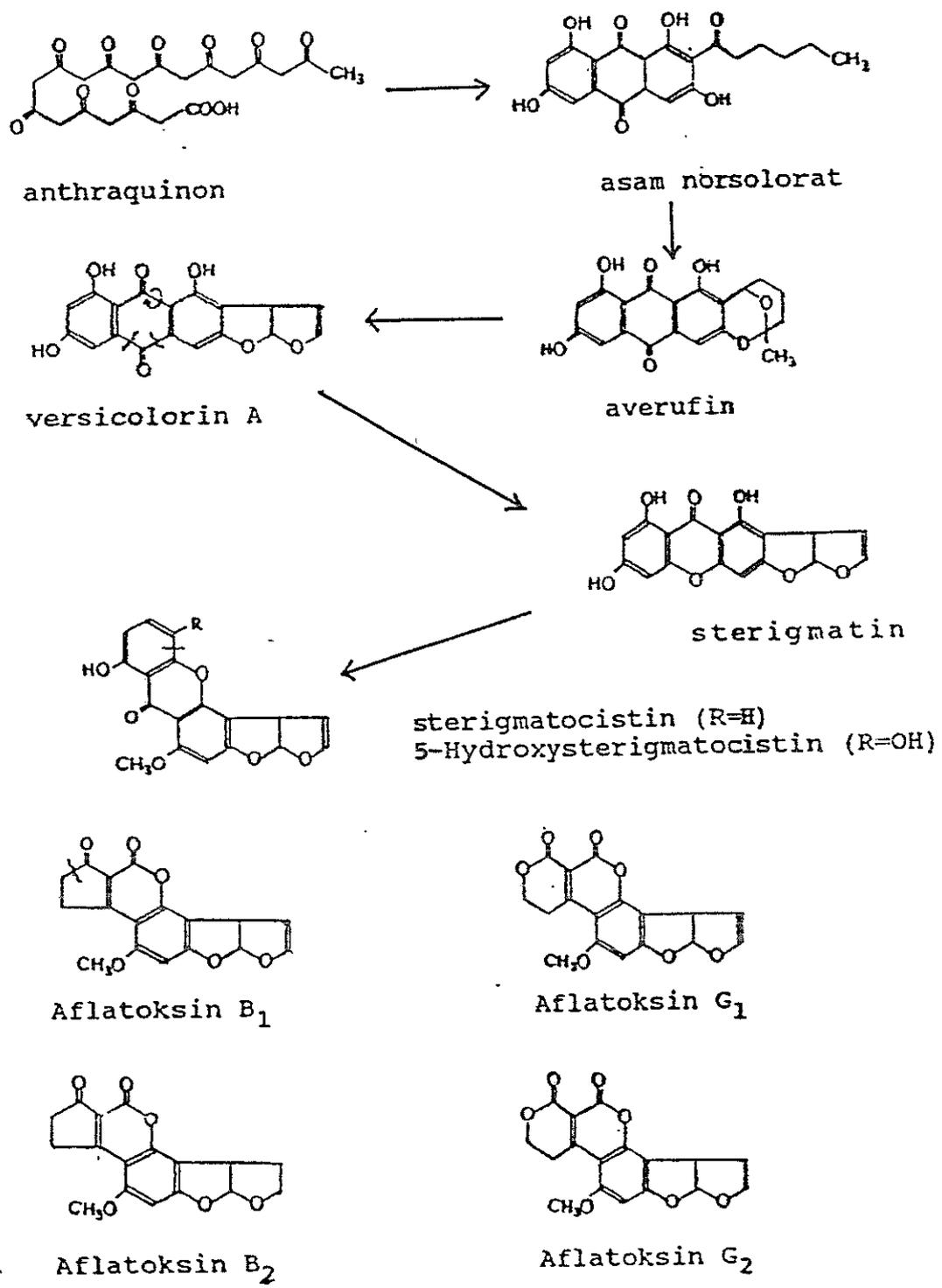
Gambar 1. Struktur morfologis kapang *Aspergillus flavus* (Diener dan Davis, 1969)

Diener dan Davis pada tahun 1967 melaporkan bahwa batas suhu terendah untuk memproduksi aflatoksin oleh *Aspergillus flavus* pada kacang tanah adalah 11.5°C - 14.5°C pada RH 98 % dan 21 hari inkubasi, sedangkan batas suhu tertinggi adalah 40°C - 43°C . Suhu optimum bagi *Aspergillus flavus* untuk memproduksi aflatoksin pada kacang tanah dan medium cair adalah 25°C , dan untuk *Aspergillus parasiticus* antara 25°C - 30°C . Waktu inkubasi untuk memproduksi aflatoksin maksimum pada kondisi tersebut bervariasi antara 7 sampai 15 hari. Schindler (1977) menyatakan pula bahwa *Aspergillus flavus* tidak akan memproduksi aflatoksin pada suhu dibawah 7.5°C dan di atas 40°C .

Biosintesis aflatoksin menurut Betina (1984) dapat terjadi dari jalur asetat-malonat melalui C_{20} -anthraquinon. Langkah awal dari biosintesis aflatoksin berasal dari kondensasi antara satu molekul asetil-CoA dan sembilan molekul malonil-CoA membentuk sebuah C_{20} -poliketida atau polihidroksianthraquinon seperti averufin atau averufanin, dan dapat terjadi pada poliketida yang membawa protein.

Menurut Betina (1984), dalam biosintesis aflatoksin rantai poliketida akan mengalami metilasi sebelum aromatisasi, sedangkan hidroksilasi molekul aflatoksin B_1 mungkin terjadi dalam mitokondria.

Biosintesis aflatoksin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Proses biosintesis aflatoksin oleh *Aspergillus flavus* (Betina, 1984).

Hal-Cara-Bandung: Lustru Lustru
 1. Mengingat pentingnya aflatoxin dalam kehidupan manusia maka perlu diketahui mekanisme dan metabolisme aflatoxin.
 2. Mengetahui bagaimana aflatoxin diproduksi pada tumbuhan, hewan, dan manusia.
 3. Mengetahui bagaimana aflatoxin dapat dihindari atau dikurangi pada tumbuhan, hewan, dan manusia.
 4. Mengetahui bagaimana aflatoxin dapat dihindari atau dikurangi pada manusia.

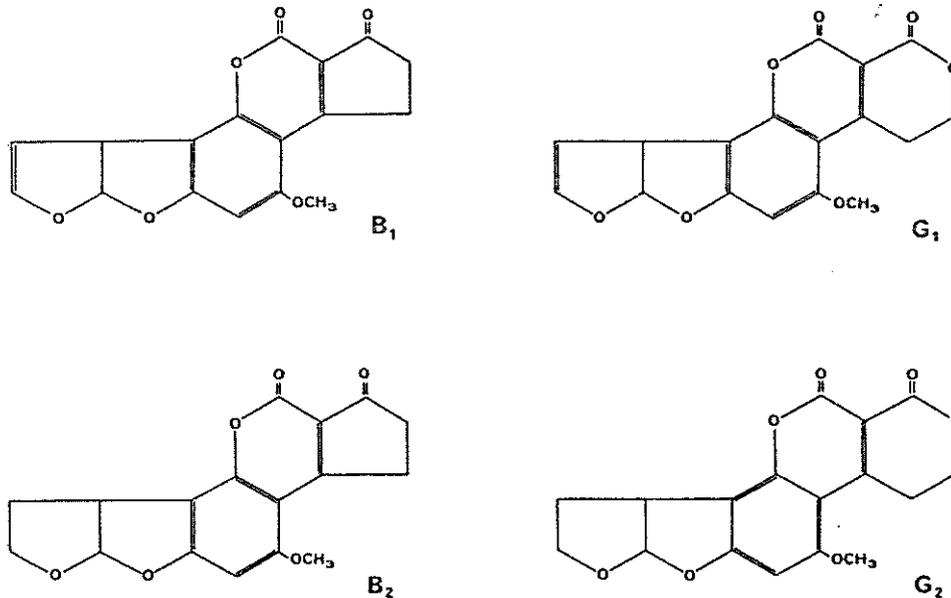
B. STRUKTUR AFLATOKSIN

Adanya pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada bahan pangan dapat merupakan petunjuk adanya pencemaran aflatoksin terhadap bahan pangan. Dari 1390 isolat *Aspergillus flavus* di berbagai negara, 803 macam atau 60% diantaranya menghasilkan aflatoksin (Diener dan Davis, 1969).

Stubblefield (1979) menyatakan bahwa terdapat beberapa jenis aflatoksin yang telah diisolasi secara terpisah, tetapi hanya enam yang diamati secara mendalam karena sifat toksisitasnya dan banyak ditemukan dalam produk-produk alami yaitu B_1 , B_2 , G_1 , G_2 , M_1 , dan M_2 .

Aflatoksin B_1 , B_2 , G_1 , dan G_2 secara umum terdapat dalam konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kasar dari toksin jenis lainnya, dimana diisolasi pertama kali oleh Nesbit dan Hartley pada tahun 1962. Mereka melakukan pemisahan dengan teknik TLC (Thin Layer Chromatography) pada pelat gel silika, menggunakan kloroform : metanol (98:2) sebagai eluen. Pada kondisi ini aflatoksin B_1 dan B_2 , yang memberikan warna biru (B = blue) di bawah sinar U.V., masing-masing mempunyai nilai R_f 0.4 dan 0.35, sedangkan aflatoksin G_1 dan G_2 yang menunjukkan warna

hijau (G green) di bawah sinar U.V., masing-masing mempunyai nilai R_f yang lebih rendah yaitu 0.34 dan 0.31. Dari analisis elemental dengan menggunakan mass spectrum diperoleh kesimpulan bahwa rumus bangun untuk aflatoksin B_1 dan G_1 masing-masing adalah $C_{17}H_{12}O_6$ dan $C_{17}H_{12}O_7$. Van der Merwe menunjukkan bahwa B_2 adalah turunan dari B_1 dan aflatoksin G_2 adalah turunan dari G_1 dengan cara hidrogenasi katalitik. Struktur yang komplit akhirnya diuraikan dengan jelas oleh Asao pada tahun 1966 dengan menggunakan X-ray difraksi metode spektroskopik (Gambar 3) (Heatchote, 1984).



Gambar 3. Struktur aflatoksin B_1 , B_2 , G_1 , dan G_2

C. AKTIFITAS BIOLOGIS AFLATOKSIN

Tingkat kepekaan terhadap aflatoksin dan racun pada umumnya dinyatakan dengan LD_{50} yaitu banyaknya racun yang dapat mematikan 50% populasi dalam waktu 4 hari (Jenie dan Muchtadi, 1978). Pada Tabel 1 disajikan nilai LD_{50} untuk aflatoksin G_1 , G_2 , B_1 , B_2 , M_1 , dan M_2 karena sifat racun dan keberadaannya pada substrat alami dengan menggunakan hewan percobaan bebek.

Tabel 1. Toksisitas aflatoksin pada anak bebek^a

Aflatoksin	LD_{50} (gr/50 gr berat badan)
B_1	12.0 - 18.2
B_2	84.8
G_1	39.2
G_2	172.5
M_1	16.6
M_2	62.0

^a Stubblefield (1979)

Aflatoksin mempunyai beberapa efek terhadap organisme antara lain :

1. Efek racun

Aflatoksin bersifat racun akut terhadap berbagai jenis organisme hidup, seperti hewan

peliharaan, sel dalam kultur, mikroorganisme dan tanaman. Dari hasil percobaan Madhavan et al. (1970) pada kera yang dikutip oleh Muhilal (1971) menunjukkan bahwa aflatoksin pada dosis rendah menyebabkan kerusakan hati dan kematian pada kera yang diberi makanan yang mengandung sedikit protein.

2. Karsinogenik

Karsinogenik terjadi bila aflatoksin dikonsumsi dalam jumlah sedikit dalam waktu yang cukup lama (efek kumulatif). Walaupun jumlah totalnya kecil, tetapi nampak jelas bahwa aflatoksin B₁ adalah karsinogen yang efektif pada hewan percobaan (Busby dan Wogan, 1979).

Pada manusia toksin ini juga mengakibatkan kematian pada beberapa orang yang mengkonsumsi beras yang mengandung aflatoksin B₁ sebesar 200 ug/kg selama 3 minggu (Shank, 1976).

3. Mutagenik

Aflatoksin jenis B₁ terbukti dapat mengakibatkan mutasi pada beberapa organisme. Efek yang ditimbulkan adalah keabnormalan kromosom pada berbagai jenis sel dan mutasi gen (Busby dan Wogan, 1979).

4. Teratogenik

Hewan percobaan yang selama kehamilannya diberi makan yang mengandung aflatoksin, dapat menghasilkan bayi yang cacat atau bahkan telah mengalami kematian sebelum dilahirkan (Busby dan Wogan, 1979).

D. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PRODUKSI AFLATOKSIN PADA SUBSTRAT ALAMI

Pembentukan senyawa aflatoksin oleh *A. flavus* pada substrat alami dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah jenis kapang, substrat, kelembaban dan kadar air, suhu dan waktu inkubasi, tingkat kematangan substrat, kerusakan substrat, kadar oksigen dan karbondioksida serta interaksi mikrobial.

Kelompok kapang *Aspergillus flavus* dapat memproduksi aflatoksin dalam jumlah yang sangat bervariasi pada substrat alami. Masing-masing jenis/galur kapang tersebut juga mempunyai potensi yang berbeda dalam memproduksi jenis aflatoksin tertentu (Diener dan Davis, 1969) (Tabel 2).

Substrat yang mengandung karbohidrat tinggi (gandum dan beras) umumnya menyebabkan produksi aflatoksin yang lebih tinggi daripada biji-bijian (kacang tanah, biji kapas, dan kedele). Hal ini dimungkinkan karena biji-bijian mengandung kadar

minyak yang cukup besar yang tidak dapat dimetabolisme dengan segera oleh *A. flavus* (Diener dan Davis, 1969).

Tabel 2. Kapang yang memproduksi aflatoksin secara in vitro^{b)}

Kapang	Peneliti	Aflatoksin			
		B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
Grup <i>Aspergillus flavus</i>					
<i>A. flavus</i>	Sargeant et al. (1961)	X	X	X	X
<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i>	Van Walbeek et al. (1968)		X		
<i>A. oryzae</i>	Basappa et al. (1967)	X	X		
<i>A. parasiticus</i>	Codner et al. (1963)	X	X	X	X
Spesies lain dari <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , dsb.					
<i>A. niger</i>	Kulik dan Holaday (1967)	X			
<i>A. wentii</i>	Kulik dan Holaday (1967)	X			
<i>A. ruber</i>	Kulik dan Holaday (1967)	X			
<i>A. ostianus</i>	Scott et al. (1967)	X		X	
<i>A. ochraceus</i>	Van Walbeek et al. (1968)	X			
<i>Penicillium puberulum</i>	Hodges et al. (1964)	X		X	
	Kulik dan Holaday (1967)	X	X	X	X
<i>P. variable</i>	Kulik dan Holaday (1967)	X			
<i>P. frequentans</i>	Kulik dan Holaday (1967)	X			
<i>P. citrinum</i>	Kulik dan Holaday (1967)	X			
<i>Rhizopus</i> sp.	Van Walbeek et al. (1968)	X		X	

^{b)} Diener dan Davis (1969).

Faktor terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi aflatoksin oleh *A. flavus* adalah kadar air substrat dan kelembaban udara disekitar substrat. Aflatoksin akan berkembang dalam dua hari pada kadar air 15-30 persen pada suhu 32.2°C, dan dalam empat hari pada kadar air 20-31 persen pada suhu 21.1 °C dalam kacang tanah segar (Dickens dan Pattee, 1966).

Landers et al. (1967) menemukan bahwa pertumbuhan dan produksi aflatoksin akan terhambat sama sekali pada kondisi udara 1% O₂ : 19% N₂ : 80% CO₂. Pengurangan kadar oksigen akan menurunkan kandungan aflatoksin, bahkan produksi aflatoksin tidak akan terjadi sama sekali pada kondisi udara 100 persen CO₂.

Kerusakan pada kulit merupakan faktor yang cukup penting terhadap penyerangan *A. flavus* dan perkembangan aflatoksin di dalam biji selama pengeringan. Biji-bijian yang telah rusak lebih sering terkontaminasi oleh *A. flavus* daripada yang masih utuh, baik selama penyimpanan maupun pengeringan buatan.

Neurospora sp. dan *Rhizopus sp.* merupakan kapang yang biasanya digunakan dalam pembuatan oncom dari bungkil kacang tanah dimana dapat menurunkan kadar aflatoksin sampai 50 persen dari kadar semula (Van veen, et al. 1967). Dari hasil penelitian Edi (1988) tahap-tahap fermentasi dalam pembuatan oncom merah dari bungkil kacang tanah dengan menggunakan *Neurospora sitophilla* dapat menurunkan kadar aflatoksin B₁ dan B₂ sekitar 77 persen tanpa kontaminasi *A. flavus*. Sedangkan dari hasil penelitian Wulan (1990) jika kontaminasi dilakukan pada saat pada saat inokulasi *Rhizopus oligosporus*



Halaman ini merupakan bagian dari dokumen yang dihasilkan oleh sistem manajemen informasi IPB University. Untuk informasi lebih lanjut, silakan kunjungi website IPB University di alamat: www.ipb.ac.id. Dokumen ini tidak boleh disebarluaskan atau digunakan untuk tujuan lain tanpa izin dari IPB University.

pada oncom hitam, kandungan aflatoksin selama fermentasi 3 hari menjadi 14.55 persen.

E. ONCOM HITAM

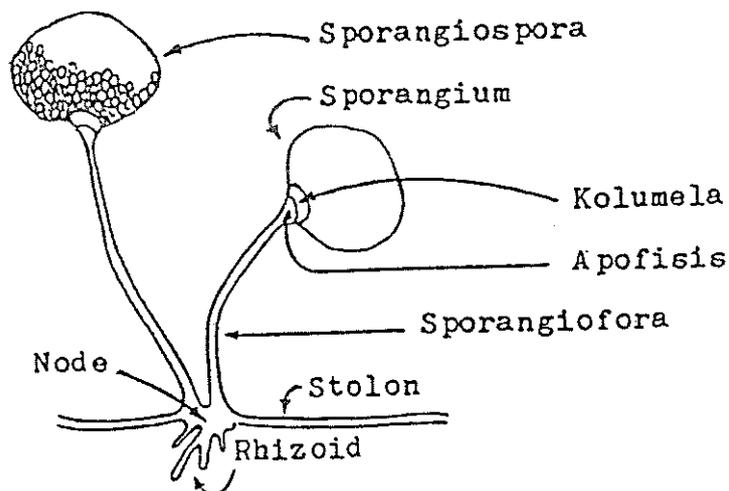
Bungkil kacang tanah adalah ampas yang merupakan hasil samping dari proses produksi minyak kacang tanah (Gray, 1970). Walaupun merupakan limbah, bungkil kacang tanah masih memiliki nilai gizi yang cukup (Tabel 3), tetapi karena penampilan fisiknya yang kurang baik maka penerimaan konsumen sangat rendah. Melalui proses fermentasi kapang, bungkil kacang tanah dapat diolah menjadi oncom, suatu produk yang telah mendapat tempat di masyarakat.

Tabel 3. Komposisi gizi bungkil kacang tanah per 100 gram^{c)}

Komposisi		Jumlah
Energi	(kal)	336
Protein	(g)	37.4
Lemak	(g)	13.0
Karbohidrat	(g)	30.5
Serat	(g)	-
Abu	(g)	-
Posfor	(mg)	470
Besi	(mg)	30.7
Kalsium	(mg)	730
Vitamin A	(SI)	-
Vitamin B ₁	(mg)	0.04
Vitamin C	(mg)	rendah
Air	(g)	14
Bagian yang dapat dimakan (%)		100

^{c)} Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R.I. (1981)

Kapang yang digunakan dalam pembuatan oncom hitam adalah *Rhizopus oligosporus*. Kapang ini termasuk dalam divisio Tallophyta, subdivisio Eumycotina, klas Zygomycetes, ordo Mucorales, famili Mucoraceae, dan genus *Rhizopus*. Menurut Fardiaz (1987) ciri-ciri *Rhizopus sp.* adalah hifanya yang merupakan komponen miselium berkembang menjadi tiga organ yaitu rhizoid yang bercabang menembus substrat, stolon yang tumbuh secara lateral pada permukaan substrat dan sporangiofora yang tumbuh ke atas dari stolon serta tidak bercabang. Morfologi *Rhizopus sp.* pada pengamatan di bawah mikroskop dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Bentuk Morfologi *Rhizopus oligosporus* (Fardiaz, 1987)

Steinkraus et al. (1960) menyatakan bahwa *Rhizopus oligosporus* mempunyai sifat-sifat sebagai berikut : (1) Tumbuh cepat pada suhu 37°C (2) Mempunyai daya proteolitik yang tinggi; sehingga setelah fermentasi selama 48-72 jam akan membebaskan amoniak (3) Mempunyai kemampuan menghasilkan aroma, rasa, dan tekstur khas pada oncom maupun tempe (4) Tidak memfermentasi sukrosa (5) Mempunyai daya lipolitik yang tinggi dan (6) Menghasilkan antioksidan.

Cooke (1979) menambahkan bahwa kapang yang digunakan dalam pembuatan tempe atau oncom hitam mempunyai beberapa persyaratan yaitu (1) Produktivitas spora tinggi (2) Viabilitas spora yang dihasilkan seragam dan mempunyai stabilitas genetik dalam waktu beberapa bulan (3) Spora yang dihasilkan cepat terdispersi dalam substrat (4) Spora mampu bergerminasi dalam waktu singkat dan (5) Bebas dari organisme kontaminan.

Di daerah Bogor oncom hitam dibuat dari bahan dasar bungkil kacang tanah yang dicampur dengan ampas tapioka, bungkil kelapa, atau tepung tapioka menggunakan kultur kapang *Rhizopus oligosporus*. Oncom merah dibuat dari bahan dasar ampas tahu dicampur dengan ampas tapioka dengan menggunakan kapang *Neurospora sitophila*.



Dalam kehidupan sehari-hari masyarakat Jawa Barat, oncom digunakan sebagai menu lauk-pauk dan panganan seperti pepes oncom, laksa, taoge goreng, tumis oncom, sambel oncom, combro, oncom goreng dan keripik oncom.

Proses pembuatan oncom dengan menggunakan kapang *R. oligosporus*, diawali dengan proses perendaman bungkil kacang tanah. Perendaman dimaksudkan untuk menambah kadar air substrat sehingga fermentasi kapang dapat berlangsung dengan baik. Selanjutnya dilakukan proses pengukusan, yang dimaksudkan untuk memperlunak bahan sehingga memudahkan penetrasi mikroba yang tidak dikehendaki. Waktu pengukusan adalah 90 menit dengan suhu sekitar 95°C (Sudarti, 1986).

Pada fermentasi oncom, untuk menunjang pertumbuhan kapang yang baik maka keasaman dari medium diatur agar memiliki pH di bawah 6.0, biasanya sampai 4.5. Pada penelitian ini perendaman 24 jam sudah cukup untuk mencapai nilai pH tersebut.

Penambahan 1 persen tapioka sebagai sumber karbohidrat dapat mempercepat pertumbuhan kapang dan memperbaiki cita rasa. Penggunaan beberapa sumber karbon dan nitrogen telah diteliti oleh Sorenson dan Hasseltine (1966) di dalam Reed (1982). Gula-gula



Halaman ini adalah bagian dari dokumen yang dihasilkan oleh sistem otomatis. Untuk informasi lebih lanjut, silakan kunjungi situs web kami di www.ipb.ac.id.
© 2023 IPB University. Semua hak cipta dilindungi undang-undang.

yang dapat digunakan sebagai sumber karbon adalah glukosa, fruktosa, galaktosa dan maltosa yang dapat meningkatkan pertumbuhan kapang seperti halnya penambahan xilosa. Beberapa minyak nabati juga dapat digunakan sebagai pengganti gula sebagai sumber karbon, sebab aktivitas lipase dari *R. oligosporus* sangat tinggi pada fermentasi tempe.

Pertumbuhan kapang biasanya lambat pada 12 jam pertama, kemudian diikuti dengan pertumbuhan miselia yang lebih cepat. Fermentasi biasanya dianggap selesai setelah seluruh massa yang kompak tertutup oleh spora dengan warna yang khas (Van veen et al., 1968).

F. KONTAMINASI AFLATOKSIN PADA KACANG TANAH DAN HASIL OLAHANNYA

Kacang tanah dapat terkontaminasi oleh aflatoksin sewaktu tanaman masih di ladang, setelah panen, maupun selama penyimpanan. Penelitian terhadap kerusakan kacang tanah ini telah dilakukan oleh Cucullu et al. (1966) dimana dari 20 biji kacang tanah yang mengkerut ditemukan 12 biji diantaranya mengandung aflatoksin 300 ppb sampai 1 100 000 ppb.

Menurut Roedjito et al. (1972) dari 13 pembuat oncom yang diteliti diperoleh bahwa kandungan aflatoksin dalam bungkil kacang tanah yang dipakai

oleh pembuat oncom rata-rata 332.7 ppb untuk total aflatoksin B₁ dan G₁, dan kandungan aflatoksin dalam oncom yang dihasilkan rata-rata 118.9 ppb atau sekitar 35.79 persen dari kadar semula. Pada Tabel 4 diperlihatkan perubahan kandungan aflatoksin pada kacang tanah dan hasil olahannya sampai menjadi oncom yang merupakan hasil penelitian Roedjito et al. (1972).

Tabel 4. Kandungan aflatoksin dalam kacang tanah dan hasil olahannya^d

Bahan	Jumlah contoh	Kandungan aflatoksin B ₁	Kandungan aflatoksin G ₁	(ppb) Total
Kacang tanah	20	44.90	83.20	128.10
Minyak kacang	58	15.15	21.20	36.35
Bungkil mentah	20	48.10	50.79	99.07
Oncom mentah	152	17.26	18.92	36.18
Oncom goreng	17	11.89	24.46	36.35

d) Roedjito et al. (1972)

Van veen et al. (1967) menyimpulkan bahwa pengolahan bungkil kacang tanah menjadi oncom dengan menggunakan inokulum kapang *R. oligosporus* dan *N. sitophila* dapat mengurangi kandungan aflatoksin sampai 50 persen dari kandungan awalnya.

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

A. BAHAN

1. Kapang

Kapang yang digunakan dalam penelitian ini adalah kapang *Aspergillus flavus* NRRL 4098 yang dapat menghasilkan aflatoksin dan kapang oncom *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710. Keduanya diperoleh dalam bentuk liofil dari Midwest Area Northen Regional Research Center, Agricultural Research Service, United States Departement of Agriculture, Peoria, Illinois, yang merupakan koleksi dari Dr. Peterson dan O'Donnel.

2. Bungkil Kacang Tanah dan Tepung Tapioka

Bungkil kacang tanah dan tepung tapioka yang digunakan dalam pembuatan oncom diperoleh dari Pasar Bogor.

3. Medium

Medium yang digunakan untuk menyegarkan dan memperbanyak kultur murni kapang adalah Potato Dextrose Broth (PDB) dan Potato Dextrose Agar (PDA). Potato Dextrose Broth (PDB) steril digunakan untuk menyegarkan kapang dari bentuk liofil.

Potato Dextrose Agar (PDA) digunakan untuk memperbanyak kultur pada agar miring dan identifikasi kapang dari bungkil kacang tanah pada cawan petri.

4. Larutan Pengencer

Larutan pengencer yang digunakan dalam pembuatan suspensi spora kapang untuk kontaminasi pada bungkil kacang tanah adalah larutan buffer posfat yang mengandung 0.5 persen tween 80 (Holmquist et al., 1983).

Larutan ini dibuat dengan cara mengencerkan 1.25 ml larutan stok sampai volumenya 1 liter ditambah dengan tween 80 sebanyak 5 ml.

Larutan stok dibuat dengan mencampurkan 34 gram KH_2PO_4 ke dalam 500 ml air, pH campuran diatur sampai 7.2, kemudian ditambah air sampai volumenya 1 liter (Fardiaz, 1987).

5. Standar Aflatoksin

Standar aflatoksin diperoleh dari Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, Amerika Serikat. Standar diperoleh dalam bentuk bubuk (padatan) masing-masing 1 mg. Standar yang diperoleh kemudian dilarutkan dalam metanol (kromatografi), dan masing-masing dibuat dengan konsentrasi aflatoksin G_2 dan B_2 0.75 ppm,

G_1 dan B_1 2.5 ppm.

6. Bahan Kimia

Bahan kimia diperlukan untuk ekstraksi dan analisis aflatoksin. Bahan-bahan kimia untuk ekstraksi aflatoksin terdiri dari asetonitril, heksana, diklorometana (p.a) dan natrium sulfat kristal bebas air. Bahan kimia untuk analisis kromatografi aflatoksin terdiri dari metanol, asetonitril dan air bebas ion.

Bahan lainnya yang diperlukan adalah kertas Whatman nomer 1 berdiameter 12.5 cm untuk menyaring bahan dan ekstrak sampel, kertas saring milipore organik 0.45 um berdiameter 13 mm untuk menyaring ekstrak akhir sampel yang akan masuk ke kolom HPLC, dan yang berdiameter 45 mm untuk menyaring eluen, serta kertas pendeteksi kromatogram.

B. ALAT-ALAT

1. Alat Untuk Membuat Oncom

Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan oncom adalah baskom plastik untuk merendam bungkil, neraca, wadah plastik, gelas piala 1 liter untuk sterilisasi bungkil, kain saring,

sendok, cawan petri berdiameter 15 cm untuk tempat oncom, tabung reaksi untuk tempat kultur dan suspensi spora, pipet steril 1 ml, jarum ose, hemasitometer untuk menghitung jumlah spora kapang dalam suspensi, dan mikroskop. Alat-alat tersebut diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi dan Laboratorium Mikrobiologi Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi.

2. Alat Untuk Ekstraksi Aflatoksin

Alat untuk ekstraksi aflatoksin terdiri dari neraca analitik, blender logam, pipet 1 ml dan 5 ml, gelas ukur 50 ml dan 100 ml, labu pemisah 500 ml, botol sampel 1 ml, corong kaca, erlemeyer 250 ml dan 100 ml, gelas piala 100 ml, dan gas nitrogen (HP). Alat-alat tersebut diperoleh dari Laboratorium Kimia PAU Pangan dan Gizi dan Pusbangtepa IPB.

3. Alat Untuk Analisis Aflatoksin

Alat-alat untuk analisis terdiri dari microsyringe 10 dan 25 ul, syringe 1 ml, alat suntik 5 ml, penyaring milipore berdiameter 13 mm, peralatan degasing yang terdiri dari aspirator dan stirer, gelas ukur 50 dan 100 ml, erlenmeyer 500 ml, dan peralatan HPLC (High

Performance Liquid Chromatography) yang terdiri dari pompa ICI Kortecks AS 2000, detektor Shimadzu florescence, Cromatopac Shimadzu CR-6A dan kolom kromatografi Reversed Phase (RP) C-18 15 cm. Alat-alat tersebut diperoleh dari Laboratorium Kimia Terpadu IPB, Bogor.

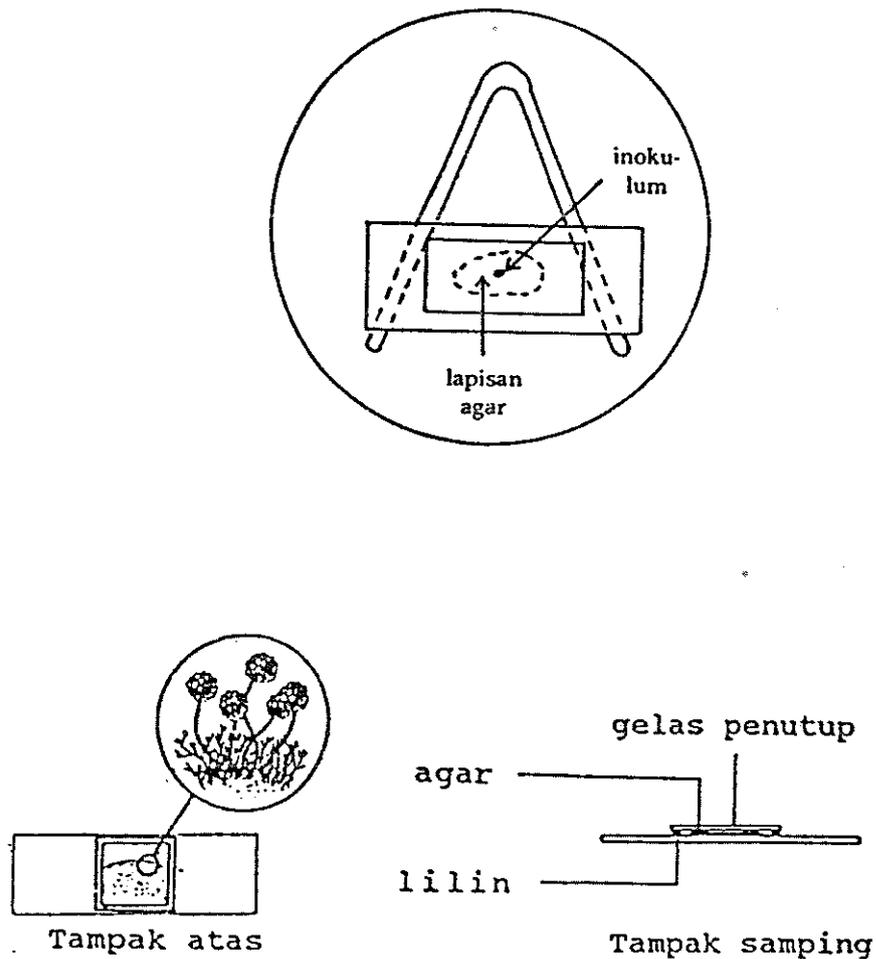
C. METODE PENELITIAN

1. Identifikasi Kapang Pada Bungkil Kacang Tanah

Pada metode pendahuluan dilakukan identifikasi kapang yang tumbuh pada bungkil kacang tanah dengan menggunakan metode slide culture untuk mengamati struktur morfologis kapang yang tumbuh.

Bungkil kacang tanah terlebih dahulu direndam semalam. Sebanyak 10 gram bungkil kacang tanah yang telah direndam diblender dengan 10 ml air. Suspensi ini ditumbuhkan pada medium agar cawan petri, dengan berbagai pengenceran, sampai diperoleh koloni yang tumbuhnya cukup terpisah satu sama lain. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 2 - 3 hari. Pada hari ketiga koloni yang tumbuh dipisah-pisahkan untuk masing-masing jenis, dan ditumbuhkan lagi pada medium agar cawan petri yang lain, sampai diperoleh koloni yang murni pada setiap cawan. Dari koloni yang

murni ini dibuatkan slide culture dengan medium PDA pada gelas obyek yang ditutup bagian atasnya seperti yang tampak pada Gambar 5. Untuk menjaga kelembaban diteteskan gliserol 10 % di sekitarnya (pada kertas saring). Cawan diinkubasi selama 2 - 4 hari pada suhu 30°C.



Gambar 5. Persiapan slide culture

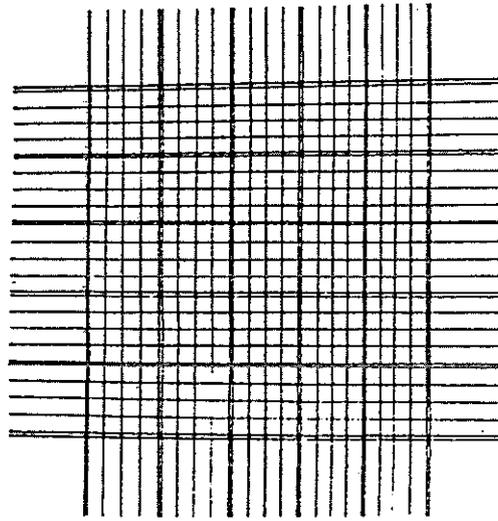
2. Penyegaran Kultur Murni Kapang

Kultur murni kapang *Aspergillus flavus* NRRL 4098 dan *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 yang berbentuk liofil disegarkan kembali dengan cara mematahkan ampul, dan liofil dilarutkan dalam 1 ml air destilata steril, kemudian dipindahkan dalam tabung reaksi steril berisi PDB. Selanjutnya dari PDB tersebut dipindahkan lagi ke dalam beberapa cawan petri berisi PDA dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 5 - 7 hari sampai kapang menghasilkan spora yang cukup banyak. Kultur turunan dibuat dengan cara menggoreskan kultur murni yang telah ditumbuhkan ke dalam agar miring (berisi PDA), dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 5 - 7 hari.

3. Pembuatan Suspensi Spora

Suspensi spora kapang dibuat dari kultur turunan yang telah berumur 5 - 7 hari dengan cara menambahkan larutan pengencer buffer posfat yang mengandung 0.5 % tween 80 pada agar tersebut. Spora kapang dipanen dengan menggunakan jarum ose dan suspensi akhir diatur agar mengandung jumlah spora sekitar 10^6 spora/ml. Perhitungan jumlah spora dilakukan dengan menggunakan hemasitometer. Bentuk hemasitometer yang dipakai seperti

tampak pada Gambar 6.



Gambar 6. Hemasitometer

Pada setiap kotak besar terdapat 16 kotak kecil, sehingga secara keseluruhan terdapat 16 x 25 kotak kecil di dalam kotak terluar yang berukuran 1 mm². Cara pengukuran dilakukan dengan menghitung 80 kotak kecil yang terdapat dalam lima kotak besar pada diagonal kotak terluar. Jika di dalam 80 kotak kecil itu terdapat X spora maka dalam setiap mm² terdapat

5(X) spora, dimana 80 kotak kecil tersebut memiliki luas 0.2 mm^2 ($80/400 \text{ mm}^2$). Karena kedalaman cairan yang tercakup oleh kotak terluar dengan ukuran 1 mm^2 adalah 0.1 mm , dengan demikian terdapat $5(X) \text{ spora}/0.1 \text{ mm}^3$ atau $50(X) \text{ spora}/\text{mm}^3$. Dan karena 1 ml sama dengan 1000 mm^3 , maka jumlah spora yang terdapat di dalam suspensi adalah $50(X) \cdot 10^3 \text{ spora}/\text{ml}$.

4. Pembuatan Oncom Hitam

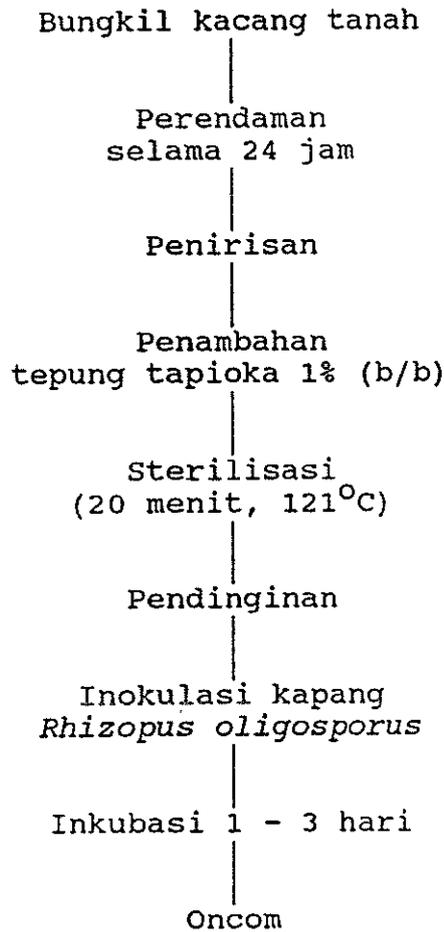
Dalam penelitian ini proses pembuatan oncom diambil dari penelitian Sudarti (1986) dengan sedikit modifikasi berdasarkan Saono et al. yang dikutip Steinkraus (1983) seperti terlihat pada Gambar 7.

Bungkil kacang tanah mentah yang sudah digiling halus direndam selama 24 jam. Kemudian ditiriskan, dan ditambah dengan 1 % tepung tapioka. Setelah itu disterilisasi selama 20 menit pada suhu 121°C , dan didinginkan. Kemudian diinokulasi dengan suspensi spora kapang oncom sebanyak $1 \text{ ml}/100 \text{ g}$ bahan dengan konsentrasi spora $10^6 \text{ spora}/\text{ml}$. Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 1 sampai 3 hari.

Landers et al. (1967) menemukan bahwa pertumbuhan dan produksi aflatoksin akan terhambat sama sekali pada kondisi udara 1% O₂ : 19% N₂ : 80% CO₂. Pengurangan kadar oksigen akan menurunkan kandungan aflatoksin, bahkan produksi aflatoksin tidak akan terjadi sama sekali pada kondisi udara 100 persen CO₂.

Kerusakan pada kulit merupakan faktor yang cukup penting terhadap penyerangan *A. flavus* dan perkembangan aflatoksin di dalam biji selama pengeringan. Biji-bijian yang telah rusak lebih sering terkontaminasi oleh *A. flavus* daripada yang masih utuh, baik selama penyimpanan maupun pengeringan buatan.

Neurospora sp. dan *Rhizopus sp.* merupakan kapang yang biasanya digunakan dalam pembuatan oncom dari bungkil kacang tanah dimana dapat menurunkan kadar aflatoksin sampai 50 persen dari kadar semula (Van veen, et al. 1967). Dari hasil penelitian Edi (1988) tahap-tahap fermentasi dalam pembuatan oncom merah dari bungkil kacang tanah dengan menggunakan *Neurospora sitophilla* dapat menurunkan kadar aflatoksin B₁ dan B₂ sekitar 77 persen tanpa kontaminasi *A. flavus*. Sedangkan dari hasil penelitian Wulan (1990) jika kontaminasi dilakukan pada saat pada saat inokulasi *Rhizopus oligosporus*



Gambar 7. Proses pembuatan oncom

5. Kontaminasi Kapang *Aspergillus flavus*

Ada lima macam perlakuan kontaminasi *Aspergillus flavus* pada proses pembuatan oncom ini yaitu ; kontrol (kontaminasi *A. flavus* 10^6 spora/ml tanpa inokulasi *R. oligosporus*), kontaminasi 10^2 spora/ml, 10^4 spora/ml, 10^6 spora/ml, dan 10^8 spora/ml.

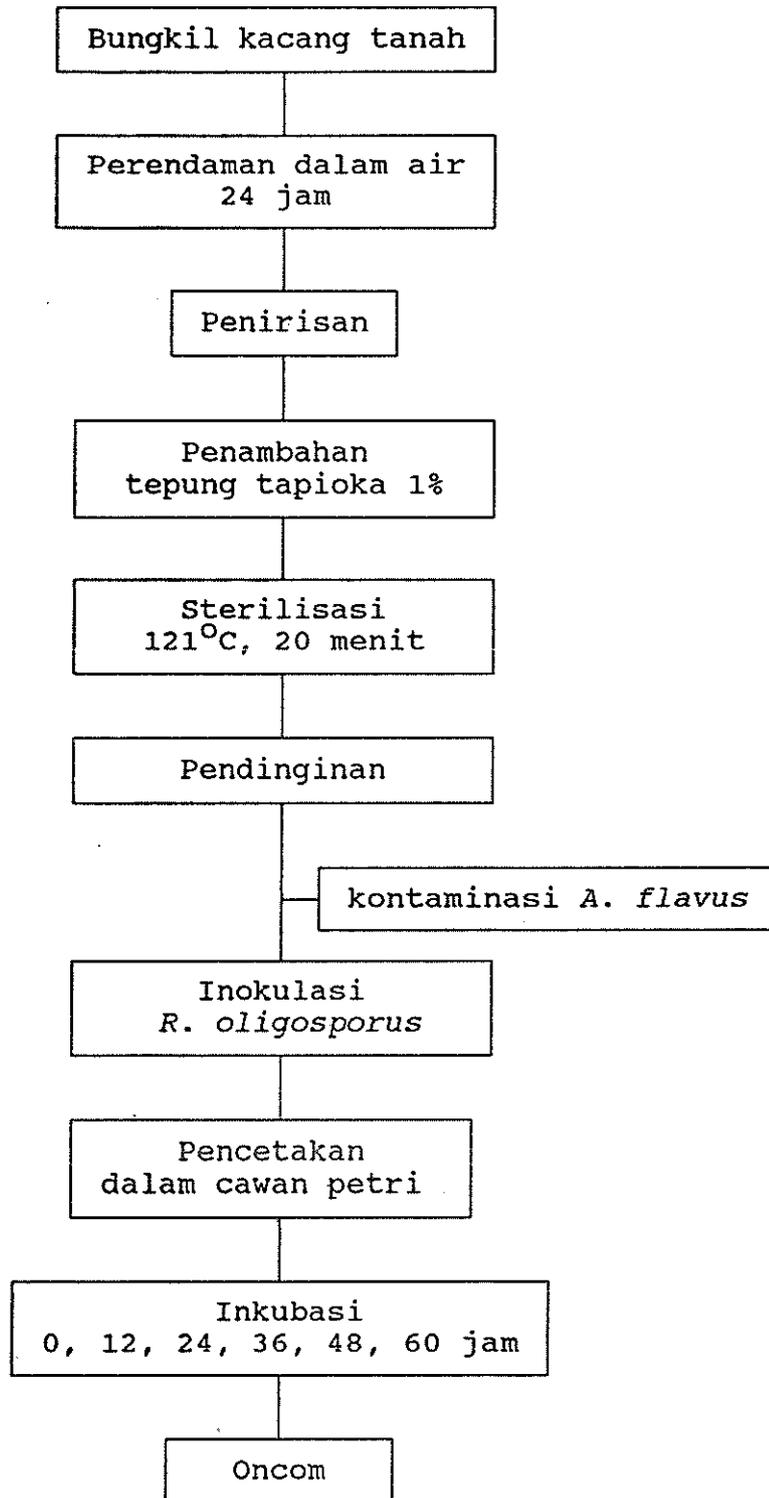
Kontaminasi dilakukan pada saat inokulasi kapang *R. oligosporus*, dengan cara mencampur secara merata suspensi kapang sebanyak 1 ml/100 g bahan (Gambar 8).

6. Ekstraksi Aflatoksin

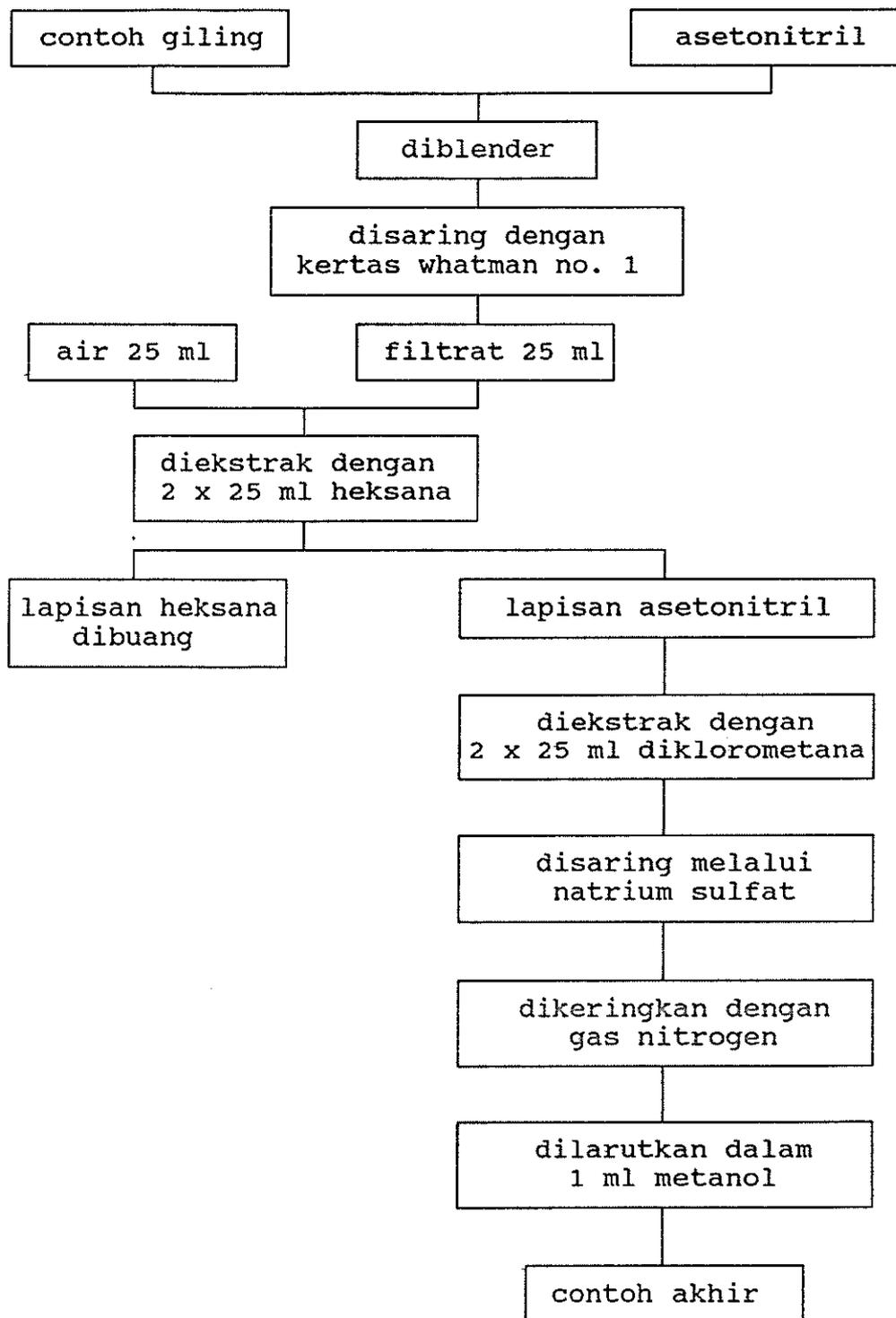
Metode ekstraksi diambil dari Blaney et al. (1984). Sebanyak 10 gram contoh ditimbang dengan neraca analitik dan di blender selama 5 menit dengan campuran 40 ml asetronitril, 5 ml larutan kalium klorida (KCl) 4 % dan 1 ml larutan asam klorida (HCl) 5 M.

Contoh disaring melalui kertas Whatman no. 1 dan 25 ml filtrat ditambah dengan 25 ml air, diekstrak dengan 2 x 25 ml heksana dalam labu pemisah. Pada tahap ini akan terbentuk dua lapisan, lapisan atas (heksana dan lemak) dibuang dan lapisan bawah (asetonitril) diekstrak ulang dengan menggunakan 2 x 25 ml diklorometana (CH_2Cl_2).

Lapisan diklorometana (bawah) disaring melalui natrium sulfat (Na_2SO_4) kristal bebas air, kemudian larutan ekstrak ini diuapkan dengan menggunakan gas nitrogen. Residu yang ada dilarutkan kembali dengan 1 ml metanol (Gambar 9).



Gambar 8. Bagan proses kontaminasi *A. flavus*



Gambar 9. Proses ekstraksi aflatoksin
(Blaney et al., 1984)

7. Analisis Aflatoksin

Pada penelitian utama analisis aflatoksin dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan alat HPLC. Sebelum analisis ekstrak contoh disaring terlebih dahulu dengan menggunakan kertas saring milipore organik 0.45 μm yang berdiameter 13 mm. Sebanyak 10 μl contoh akhir disuntikan ke dalam alat HPLC dengan menggunakan microsyringe. Kondisi alat HPLC diatur sebagai berikut : detektor floresensi diatur pada range 8 dengan sensitivitas tinggi, panjang gelombang eksitasi 365 nm dan panjang gelombang emisi 455 nm. Pada penelitian ini digunakan satu buah pompa yang diatur, dimana pompa A mempunyai kecepatan aliran 1.00 ml/menit dengan tekanan rata-rata 120 - 150 kgf/cm^2 (84 bar). Kolom yang digunakan tipe RP (Reversed Phase/C-18) dan suhu dimana kolom berada diatur pada 35°C.

Pada kromatopak kondisi attenuasi 3, drift 0, width 5, minimum area 30, stop time 15 menit, kecepatan kertas diatur 3 mm/menit (speed 3), dan format yang digunakan adalah 3021 dengan metode 41.

Eluen yang digunakan terdiri atas metanol : asetonitril : air = (20 : 20 : 60) (Herst, 1991). Sedangkan untuk pencuci kolom dan sel detektor

digunakan metanol 70 %. Terhadap eluen maupun pencuci kolom perlu dilakukan degasing terlebih dahulu selama 15 menit dengan bantuan pompa vakum untuk menghilangkan gelembung udara yang masih ada dalam larutan.

8. Pengambilan Contoh

Pada penelitian utama pengambilan contoh dilakukan pada setiap tahap fermentasi dan perlakuan terhadap bungkil kacang tanah yaitu :

- a. Bungkil kacang tanah mentah
- b. Setelah sterilisasi 121°C, 20 menit
- c. Setelah inokulasi *R. oligosporus* (fermentasi 0 jam)
- d. Fermentasi 12 jam
- e. Fermentasi 24 jam
- f. Fermentasi 48 jam
- g. Fermentasi 36 jam
- h. Fermentasi 60 jam

D. RANCANGAN PERCOBAAN

Dalam penelitian ini hanya ada 1 faktor tunggal yaitu kontaminasi *A. flavus* dengan 4 taraf perlakuan dan 1 kontrol. Keempat taraf perlakuan tersebut yaitu kontaminasi *A. flavus* 10^2 spora/ml,

10^4 spora/ml, 10^6 spora/ml, dan 10^8 spora/ml dengan inokulasi kapang *R. oligosporus* 10^6 spora/ml. Sedangkan sebagai kontrol adalah kontaminasi *A. flavus* 10^6 spora/ml tanpa inokulasi kapang *R. oligosporus*.

Hasil yang diamati adalah kandungan aflatoksin pada setiap tahap proses fermentasi, mulai dari bungkil kacang tanah mentah, bungkil kacang tanah setelah sterilisasi, fermentasi 0, 12, 24, 36, 48, dan 60 jam. Hasil yang diharapkan adalah penurunan kandungan aflatoksin dengan perbandingan yang signifikan selama tahap fermentasi dan terhadap pengaruh konsentrasi kontaminan *Aspergillus flavus*.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan dua kali ulangan. Model rancangan percobaan yang digunakan mengikuti rumus sebagai berikut :

$$Y_{ij} = U_i + T_j + E_{ij} \quad (i = 1, 2, \dots, 5) \\ (j = 1, 2)$$

Dimana :

Y_{ij} = pengamatan pada perlakuan ke i ulangan ke j

U_i = nilai tengah

T_j = pengaruh perlakuan ke i ulangan ke j

E_{ij} = galat percobaan



Analisis selanjutnya menggunakan uji Duncan's Multiple Range Test untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kandungan aflatoksin pada setiap taraf perlakuan kontaminasi dengan membandingkan nilai tengah (rata-rata) hasil pada setiap taraf perlakuan.

Hasil yang keluar dari kromatogram dengan metode 41 adalah kandungan aflatoksin dalam ppm. Hasil ini diperoleh dari perbandingan antara luas peak contoh dengan peak standar dikalikan dengan konsentrasi standar. Dari contoh awal sebanyak 10 gram dibuat larutan sebanyak 46 ml dan diambil filtratnya 25 ml. Larutan ini diuapkan dan residu dilarutkan dalam 1 ml metanol. Dari ekstrak akhir ini kemudian disuntikan sebanyak 10 ul kedalam kolom HPLC. Kandungan aflatoksin dapat dihitung dari hasil pembacaan kromatogram dengan cara sebagai berikut (Williams, 1984) :

$$\text{Kandungan aflatoksin } B_1 = \frac{P \times C \times D}{P' \times W}$$

dimana :

P = luas area aflatoksin B_1 sampel hasil pembacaan

C = konsentrasi aflatoksin B_1 standar

D = ekstrak sampel

P' = luas area aflatoksin B_1 standar hasil pembacaan

W = berat awal sampel

Dalam setiap ulangan dirata-ratakan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan tahap fermentasi terhadap penurunan kandungan aflatoksin pada oncom, maka kadar aflatoksin pada setiap perlakuan dikonversikan ke persen dengan anggapan kadar aflatoksin pada bungkil kacang tanah mentah 100 persen.

$$\text{Kadar aflatoksin (\%)} = (X/A) \times 100 \%$$

dimana X = kadar aflatoksin (ppm) pada setiap tahap fermentasi

A = kadar aflatoksin (ppm) bungkil kacang tanah mentah

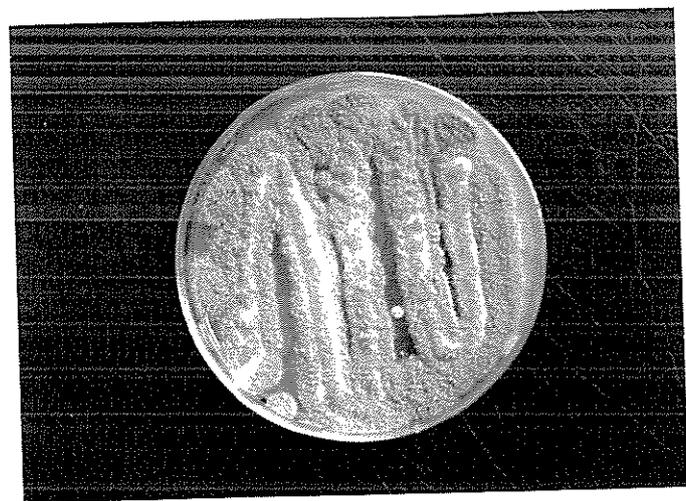
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. PENELITIAN PENDAHULUAN

1. Identifikasi Kapang pada Bungkil Kacang Tanah

Identifikasi kapang pada bungkil kacang tanah dibatasi hanya sampai bentuk morfologisnya saja. Tidak dilakukan uji-uji untuk identifikasi lebih lanjut. Dari hasil isolasi kapang dari bungkil kacang tanah mentah diperoleh dua jenis kapang dengan warna penampakan yang berbeda.

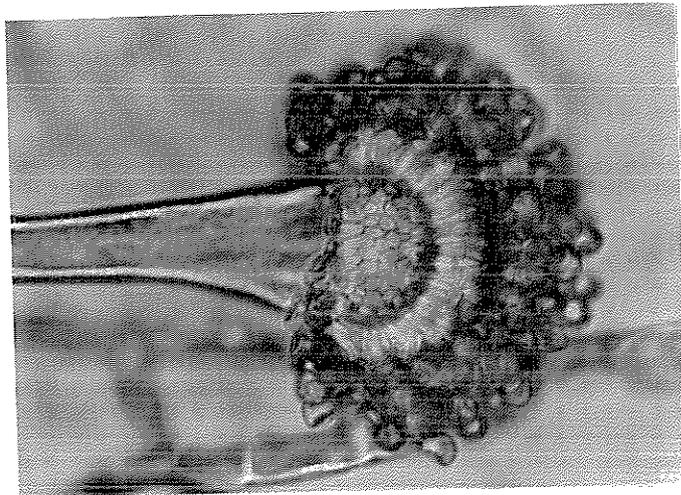
Kapang jenis pertama berwarna hijau kekuningan seperti tampak pada Gambar 10.



Gambar 10. Kapang berwarna hijau kekuningan yang diisolasi dari bungkil kacang tanah



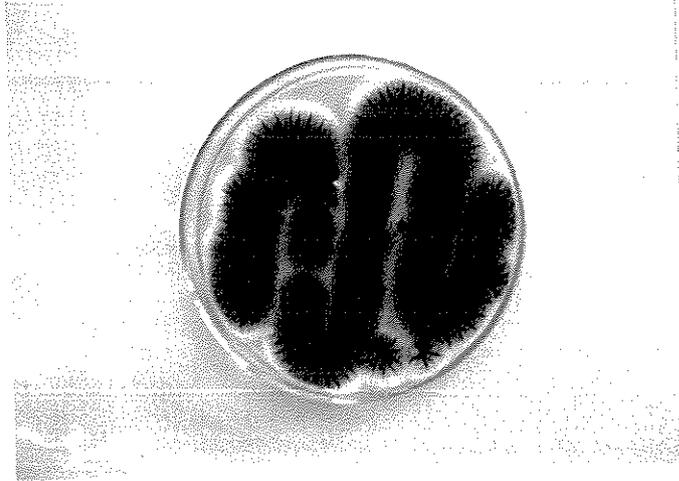
Penampakan di bawah mikroskop menunjukkan ciri-ciri kapang yang mirip dengan *Aspergillus flavus*, yaitu hifa septat dan miseliumnya bercabang. Konidioforanya lurus dan septat, membengkak pada ujungnya dan berbentuk seperti kepala yang jauh lebih besar daripada badannya. Bentuk morfologisnya dapat dilihat pada Gambar 11.



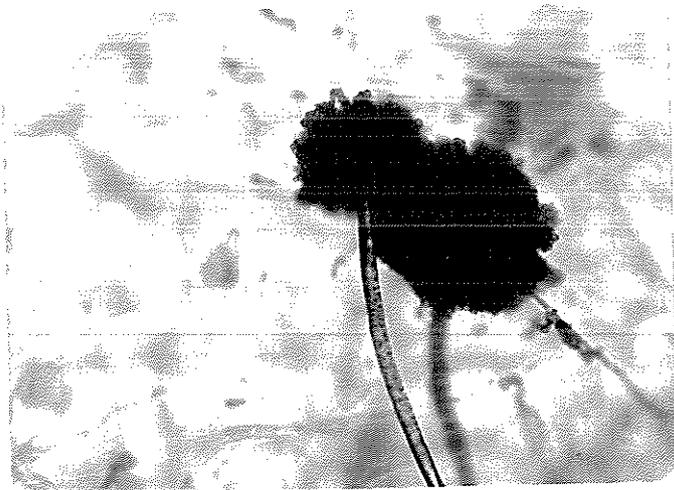
Gambar 11. Bentuk morfologis dari kapang hijau kekuningan.

Kapang kedua berwarna hitam seperti tampak pada Gambar 12. Penampakan kapang tersebut di bawah mikroskop memberikan ciri-ciri yang mirip dengan *Aspergillus niger*. Hifa tidak bersekat, konidioforanya lurus, berbentuk bulat pada bagian ujungnya dengan ukuran yang jauh lebih besar. Bentuk konidianya bulat dan berwarna coklat.

Bentuk morfologisnya dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 12. Kapang hitam yang diisolasi dari bungkil kacang tanah



Gambar 13. Bentuk morfologis kapang hitam

2. Hasil Pembuatan Oncom

Pada penelitian pendahuluan ini pembuatan oncom dilakukan dengan menggunakan metode Sudarti (1986) yang telah dimodifikasi. Bungkil kacang tanah mentah terlebih dahulu direndam selama 24 jam. Proses perendaman bertujuan untuk memperlunak bahan supaya mekar dan terpisah satu sama lain, selain itu untuk melepaskan kotoran-kotoran yang terdapat pada bungkil.

Menurut Edi (1988) jika lama perendaman kurang dari 24 jam, proses fermentasi oncom tidak dapat berlangsung dengan sempurna karena bungkil telah kering sebelum fermentasi selesai. Perendaman kurang dari 24 jam juga belum dapat menambah kadar air substrat yang diperlukan untuk pertumbuhan kapang. Selain itu selama proses fermentasi terjadi kehilangan air karena panas yang dihasilkan akan menguapkan air dari bungkil kacang tanah (Hermana dan Sutedja, 1982).

Menurut Steinkraus et al. (1972) perendaman juga dilakukan dengan tujuan untuk menurunkan kandungan lipida pada substrat. Substrat yang mengandung kadar lipida yang tinggi tidak dapat dimetabolisme dengan segera oleh *A. flavus*.

Setelah perendaman, dilakukan proses

pencucian untuk menghilangkan kotoran yang ada. Pada proses pembuatan oncom ini pengaturan pH menjadi 4.5-5.5 tidak dilakukan karena perendaman selama 24 jam telah cukup untuk memenuhi kisaran pH yang diperlukan.

Penambahan 1 % tepung tapioka dilakukan untuk menambah sumber karbon pada bungkil kacang tanah, yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Menurut Hasseltine (1963) kapang *R. oligosporus* dapat menghasilkan enzim amilase setelah 66 jam fermentasi. Hasil pemecahan karbohidrat dalam bungkil kacang tanah oleh enzim tersebut sebagian besar terdiri dari selulosa dan oligosakarida sederhana, sedangkan hemiselulosa dapat dilarutkan sebagian sehingga menyebabkan tekstur substrat menjadi lunak, dan akan mempermudah daya cerna oncom.

Selanjutnya dilakukan proses sterilisasi 121°C selama 20 menit. Proses sterilisasi ini ditujukan untuk memperlunak substrat sehingga memudahkan penetrasi mikroorganisme kedalam substrat, dan untuk menyeleksi mikroba yang tidak dikehendaki yang dapat tumbuh pada oncom, sehingga diharapkan hanya kapang *A. flavus* dan *R. oligosporus* yang dapat tumbuh. Sterilisasi ini juga untuk menurunkan kandungan aflatoksin awal

dari bungkil kacang tanah mentah.

Inokulasi kapang *R. oligosporus* dan kontaminasi kapang *A. flavus* dilakukan dengan cara mencampurkan suspensi spora kapang ke dalam substrat sebanyak 1 ml/100 g bahan. Jumlah suspensi spora kapang *R. oligosporus* sebanyak 10^6 spora/ml, sedangkan kontaminasi kapang *A. flavus* sebanyak 10^2 , 10^4 , 10^6 , dan 10^8 spora /ml. Pada penelitian pendahuluan dari beberapa kali ulangan didapat bahwa kapang *A. flavus* sudah dapat tumbuh dalam waktu 24 jam setelah inokulasi. Sedangkan *R. oligosporus* dapat tumbuh baik dan menghasilkan miselia berwarna putih dalam waktu 36 jam setelah inokulasi.

Pembuatan oncom dilakukan dalam cawan petri berdiameter 15 cm. Oncom yang dibuat dalam cawan petri tertutup menghasilkan massa yang kompak dalam waktu 36 jam setelah inokulasi, dengan warna miselium putih, tekstur keras, dan bau khas oncom. Pada hari ketiga (60 jam setelah inokulasi) oncom yang dibuat masih mempunyai tekstur yang cukup keras, warna miselium putih keabu-abuan, bau khas oncom, sedikit berair dan berbau alkohol.

Went (1965) menyatakan dari hasil

penelitiannya bahwa kapang *R. oligosporus* dapat menguraikan pati dan selulosa (karbohidrat) menjadi gula-gula sederhana yaitu glukosa, lemak menjadi asam lemak dan gliserin, serta protein menjadi pepton dengan adanya enzim proteolitik.

Selanjutnya menurut Frazier dan Westhoff (1978) karbohidrat dan asam-asam organik akan mengalami hidrolisis, dan pada kondisi aerobik akan teroksidasi menghasilkan karbondioksida dan air. Namun laju air yang dihasilkan lebih lambat daripada laju penguapan, karena pada pembuatan oncom, bahan (bungkil kacang tanah) berada dalam kondisi terbuka.

Dari hasil penelitian Meutia (1987) diperoleh bahwa pada pembuatan oncom yang ditutup rapat, pertumbuhan miselium kapang *R. oligosporus* subur tetapi bau alkohol tajam dan rasanya kurang enak. Bau alkohol disebabkan karena terjadi penguraian amilum oleh enzim amilase menjadi asam-asam organik. Dalam proses metabolisme kapang asam organik ini selanjutnya diubah menjadi alkohol yang dapat menghasilkan energi. Dalam kondisi aerob, proses fermentasi akan menghasilkan gas karbondioksida dan air.

Pertumbuhan kapang biasanya lambat pada 12



jam pertama, kemudian diikuti dengan pertumbuhan miselia yang cepat. Fermentasi biasanya dianggap selesai setelah seluruh massa yang kompak tertutup oleh spora dengan warna yang khas (Van veen et al., 1968).

3. Hasil Ekstraksi Aflatoksin

Aflatoksin larut dalam pelarut-pelarut polar seperti golongan alkohol (metanol, etanol), asetonitril, kloroform, dan air. Pada tahap ekstraksi aflatoksin, sampel yang terdiri dari bungkil kacang tanah mentah sampai produk fermentasi (oncom) harus dipisahkan dari komponen-komponen lain yang dapat menghambat analisis aflatoksin seperti lemak kacang tanah. Metode ini tidak sama untuk semua bahan pangan, tergantung jenis bahan pangan tersebut.

Pemisahan lemak tidak dilakukan pada tahap awal ekstraksi, tetapi sesudah contoh tersebut diekstrak dengan pelarut asetonitril, KCl, dan HCl. Menurut Bullerman (1979), dengan cara tersebut pemisahan lemak lebih cepat dan mudah dibandingkan pemisahan langsung dari sampel. Pemisahan lemak dilakukan dengan menggunakan pelarut heksana, dan aflatoksin tidak larut dalam pelarut heksana, sehingga metode ini cukup

- aman untuk memisahkan minyak dari contoh yang mengandung aflatoksin.

Tahap selanjutnya adalah mengekstrak lapisan asetonitril yang melarutkan aflatoksin menggunakan diklorometana (metilen khlorida). Dalam hal ini akan dipisahkan antara aflatoksin dengan air. Fraksi air dalam filtrat dan diklorometana tidak dapat bersatu. Air tidak dapat larut dalam diklorometana, sedangkan aflatoksin lebih larut dalam diklorometana dibandingkan dengan air. Jadi air dipisahkan dari filtrat supaya memudahkan dalam proses penguapan pada tahap akhir. Hasil ekstraksi dengan diklorometana disaring melalui natrium sulfat anhidrat untuk mengikat air.

Dalam metode Blaney et al. (1984) yang digunakan dalam metode ini penggunaan natrium sulfat anhidrat untuk menyerap air yang ada di dalam ekstrak diklorometana harus cukup jumlahnya. Apabila jumlah yang digunakan terlalu sedikit maka air yang terdapat dalam contoh akan melarutkan natrium sulfat anhidrat, yang mengakibatkan ekstrak aflatoksin akan terperangkap dalam natrium sulfat anhidrat ketika dikeringkan dengan gas nitrogen.



Hal ini disebabkan oleh...
1. Diklorometana...
2. Natrium sulfat anhidrat...

Filtrat akhir dikeringkan dengan menggunakan gas nitrogen untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kering aflatoksin yang kemudian dilarutkan dengan metanol. Ekstrak aflatoksin dapat disimpan di dalam lemari es untuk mengurangi penguapan sebelum disuntikkan pada alat HPLC.

4. Kondisi Analisis Aflatoksin

Analisis aflatoksin secara kuantitatif dilakukan menggunakan alat HPLC (Kromatografi Cairan Tekanan Tinggi). Dalam mendeteksi kandungan aflatoksin dalam sampel, penggunaan HPLC lebih efisien dan mempunyai sensitivitas yang tinggi. Oleh karena itu dalam analisis aflatoksin dengan HPLC diperlukan persiapan sampel yang baik (Jarvis et al., 1982).

Sebagai fase geraknya (eluen) digunakan campuran metanol : asetonitril : air dengan perbandingan 20 : 20 : 60. Kecepatan eluen diatur 1 ml/menit dengan menggunakan 1 pompa. Pelarut ini bersifat polar sehingga dapat menghasilkan pemisahan yang baik.

Kolom yang digunakan adalah tipe Reversed Phase-18 (RP-18) atau oktadekil, yang merupakan kolom fase terbalik. Fase diam kolom ini

berisikan butir-butir silika yang berukuran 5 - 10 μm yang dimodifikasi sehingga permukaannya bersifat kurang polar. Jika fase yang kepolarannya lebih rendah ialah fase diam, ini dikenal dengan sebagai fase terbalik (Gritter et al., 1991).

Menurut Suprpto (1981) dari keempat jenis aflatoksin B_1 , B_2 , G_1 , G_2 sifat kepolarannya semakin bertambah besar berurutan dari B_1 ke arah G_2 . Karena kolom yang digunakan adalah fase terbalik, dimana fase gerak adalah larutan polar, maka aflatoksin yang lebih polar dapat memperlihatkan respon yang lebih dahulu berupa peak area dengan waktu retensi yang lebih singkat dibandingkan dengan yang lain. Semakin non polar sifat suatu bahan, semakin lama bahan tersebut tertahan di dalam kolom.

Detektor yang digunakan adalah detektor fluoresensi, dengan panjang gelombang emisi 455 nm dan panjang gelombang eksitasi 365 nm. Kelebihan detektor ini dibandingkan dengan detektor UV yaitu lebih selektif, sebab aflatoksin merupakan senyawa berfluoresensi. Intensitas fluoresensi yang diperlihatkan oleh aflatoksin B_1 dan G_1 dalam pelarut polar tersebut

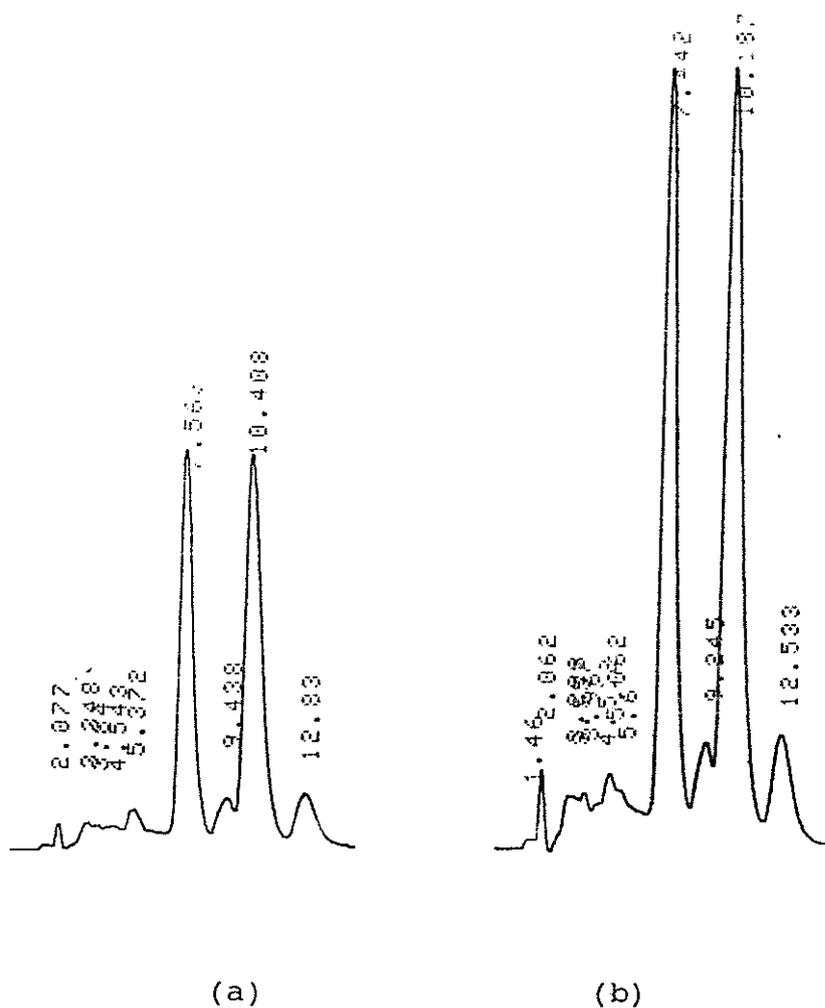
lebih rendah karena mengalami reduksi yang berlainan dengan fluoresensi B_2 dan G_2 yang tidak terpengaruh dalam pelarut polar (Hunt, 1980).

Analisis standar dan sampel aflatoksin pada kromatogram disajikan pada Gambar 14, terlihat bahwa jenis aflatoksin yang menimbulkan respon terlebih dahulu adalah G_2 , disusul dengan G_1 , B_2 , dan terakhir B_1 dengan masing-masing waktu retensi 7.0 - 8.0 menit, 8.5 - 9.5 menit, 10.0 - 11.0 menit, dan 12.0 - 13.0 menit.

Kecepatan aliran pelarut diatur 1 ml/menit, sedangkan tekanan rata-rata pompa 120 - 150 kgf/cm^2 (84 Bar.). Dengan kondisi ini semua peak diharapkan dapat keluar dalam waktu 15 menit. Tekanan pompa akan terganggu jika ada gelembung udara yang masuk ke dalam kolom, sehingga mempengaruhi keluarnya peak. Untuk itu dijaga jangan sampai ada gelembung udara pada eluen, dengan cara menyaring eluen dan dilakukan degasing terlebih dahulu dengan bantuan pompa vakum dan stirer.

Kromatogram diatur pada kondisi atenuasi 3, drift 0, width 5, dan minimum area 30. Kecepatan kertas diatur pada speed 3 yang berarti 0.3 cm/menit dengan stop time 15 menit, sehingga kromatogram akan berhenti secara otomatis setelah

15 menit. Metode yang digunakan adalah metode 41 yang hanya menampilkan peak, waktu retensi, dan luas peak.



Gambar 14. Hasil keluaran kromatogram
(a) standar (b) sampel

B. PENELITIAN UTAMA : KANDUNGAN AFLATOKSIN CONTOH

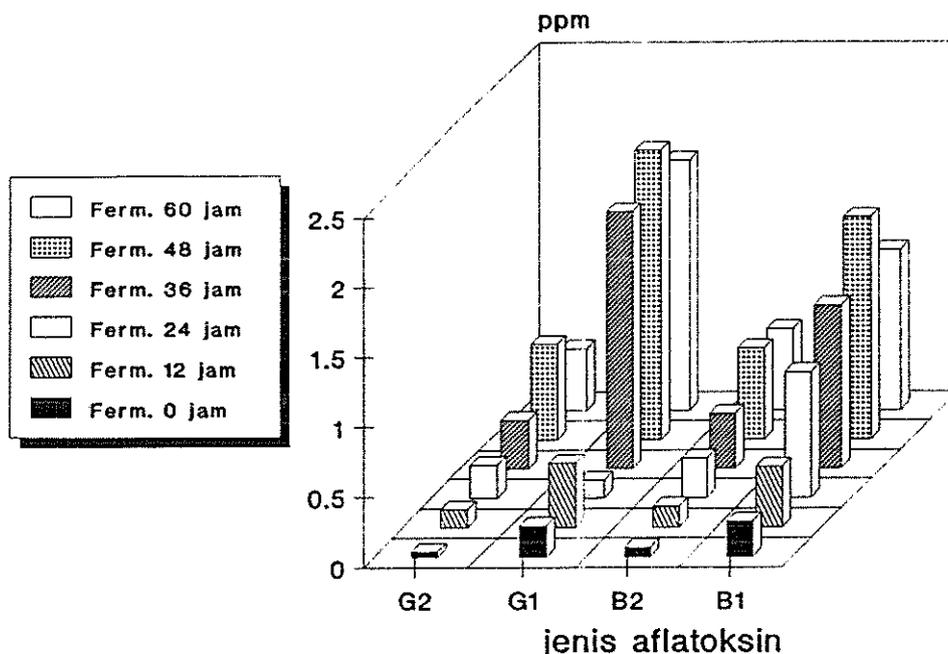
1. Standar Aflatoksin

Standar aflatoksin yang digunakan terdiri dari aflatoksin G_2 dan B_2 dengan konsentrasi masing-masing 0.75 ppm, dan aflatoksin G_1 dan B_1 dengan konsentrasi masing-masing 2.5 ppm. Sebelum penyuntikan contoh alat harus dikalibrasikan dahulu dengan standar.

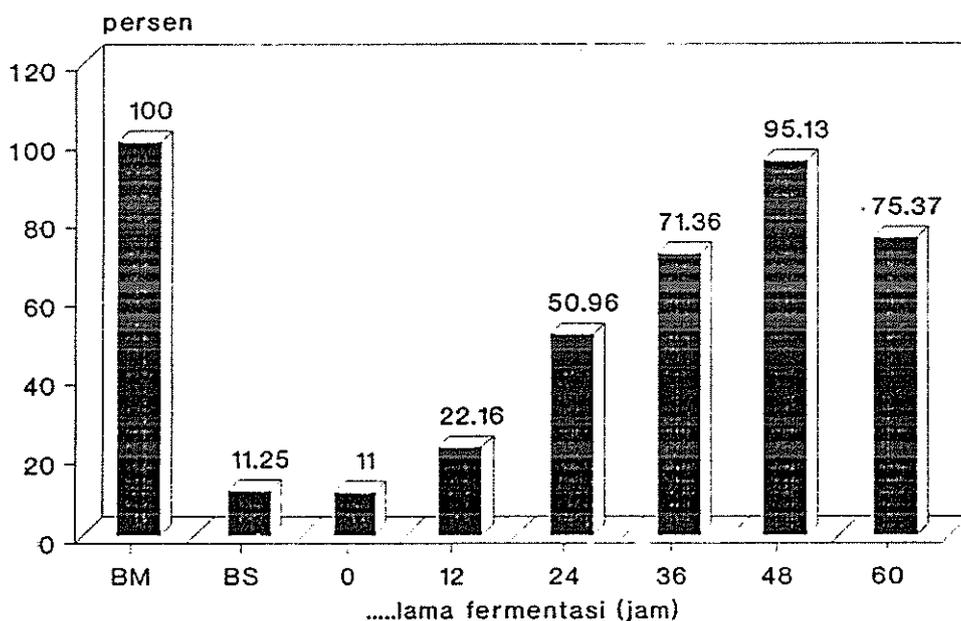
2. Kandungan Aflatoksin Dalam Contoh

Kandungan aflatoksin rata-rata (dua kali ulangan) dalam contoh dapat dilihat pada Lampiran 1, 2, 3, 4, dan 5. Perubahan kandungan aflatoksin selama tahap-tahap fermentasi disajikan pada Gambar 15, 17, 19, 21, dan 23, sedangkan persen penurunan kandungan total aflatoksin dalam contoh dapat dilihat pada Gambar 16, 18, 20, 22, dan 24.

Untuk mempermudah perhitungan analisis sidik ragam, maka tabel kandungan aflatoksin contoh dibuat persentasenya, seperti pada Lampiran 7, 8, 9, 10, 11, 12 dan 13.

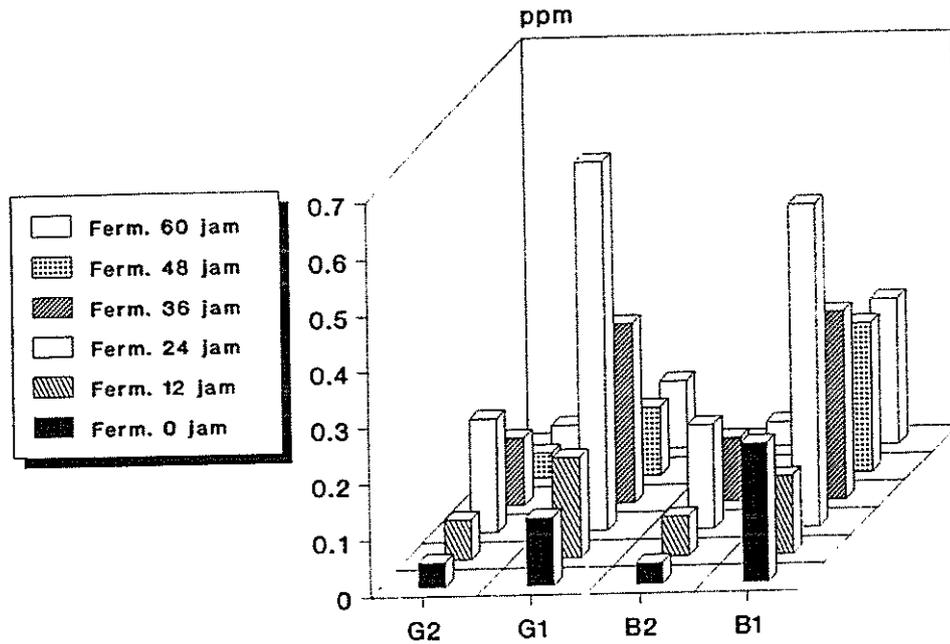


Gambar 15. Perubahan kandungan aflatoksin pada kontrol (kontaminasi *A. flavus* 10^6 , tanpa inokulasi *R. oligosporus*).

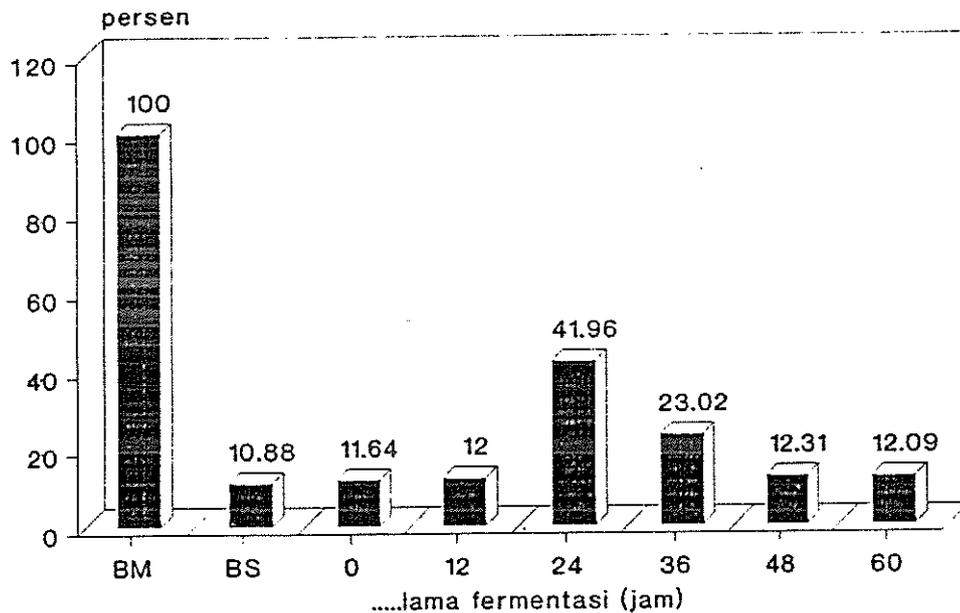


BM•bungkil mentah
BS•bungkil steril

Gambar 16. Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada kontrol (kontaminasi *A. flavus* 10^6 , tanpa inokulasi *R. oligosporus*)

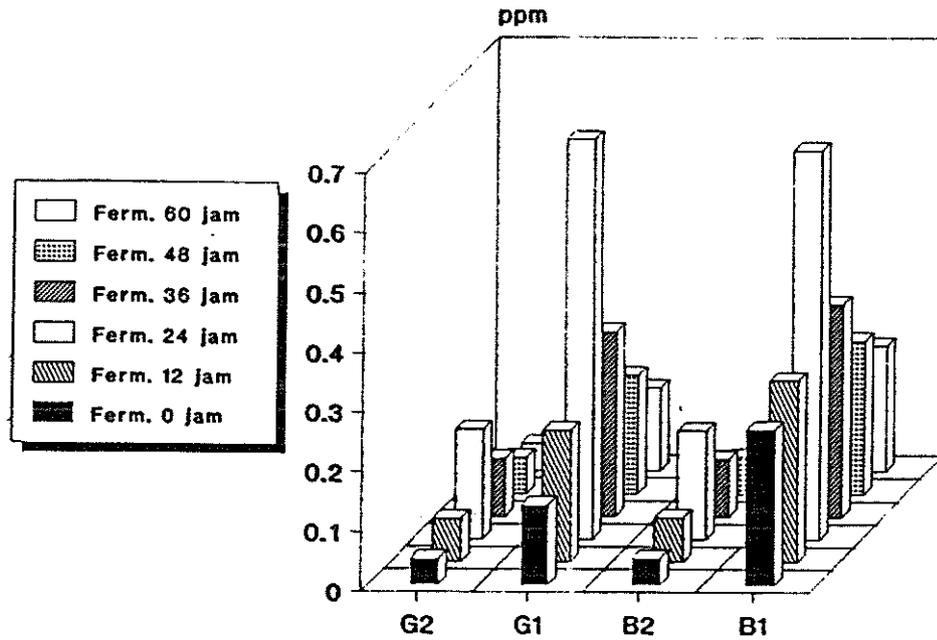


Gambar 17. Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom yang dikontaminasi *A. flavus* 10² spora/ml/100 g

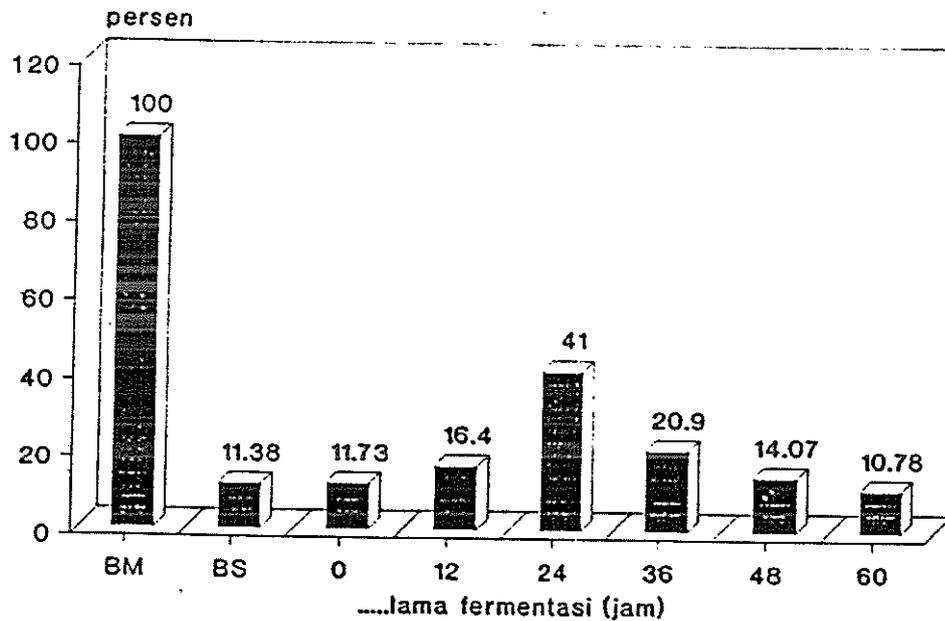


BM•bungkil mentah
BS•bungkil steril

Gambar 18. Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom yang dikontaminasi *A. flavus* 10² spora/ml/100 g

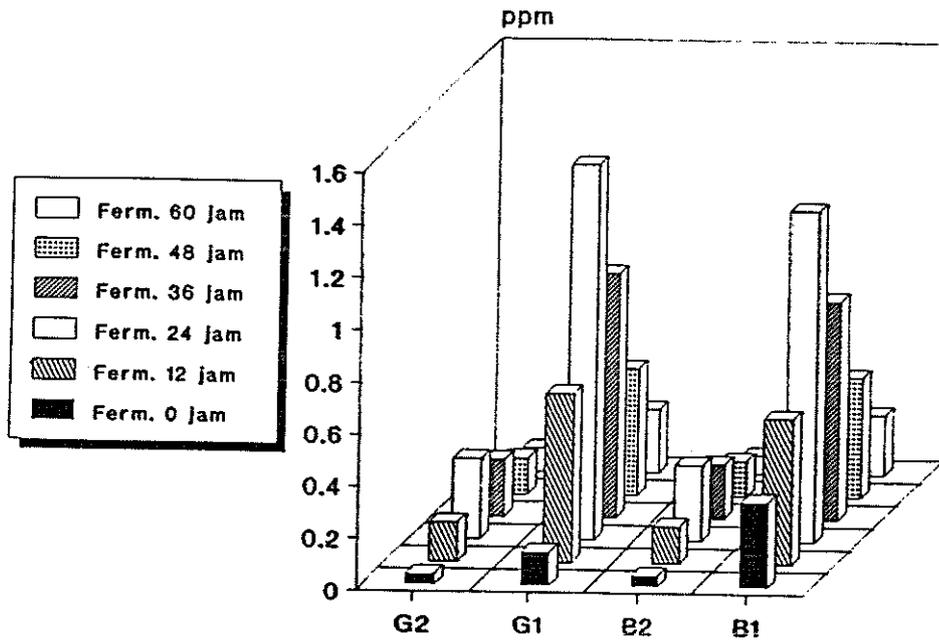


Gambar 19. Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom yang dikontaminasi *A. flavus* 10^4 spora/ml/100 g

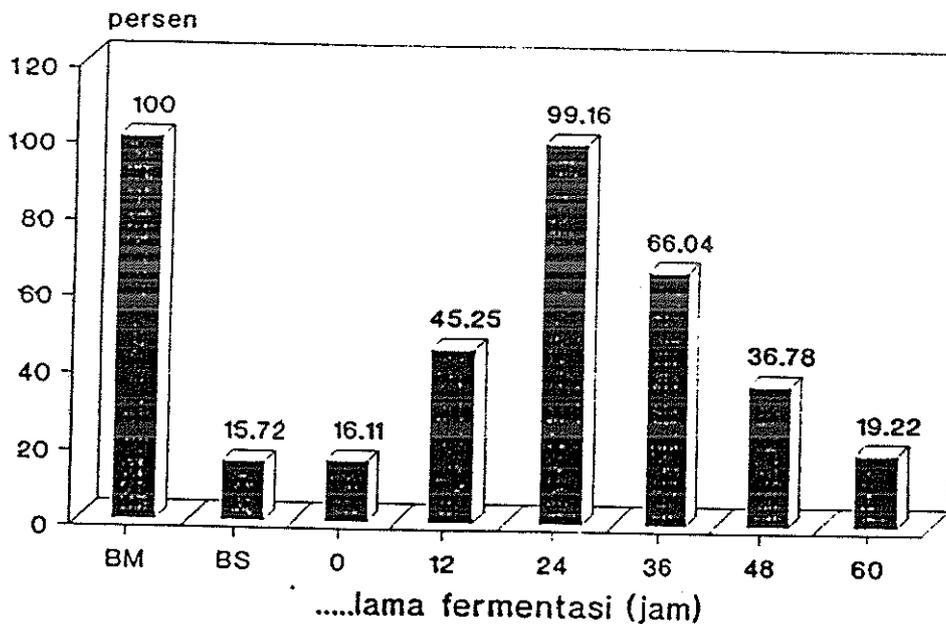


BM•bungkil mentah
BS•bungkil steril

Gambar 20. Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom yang dikontaminasi *A. flavus* 10^4 spora/ml/100 g

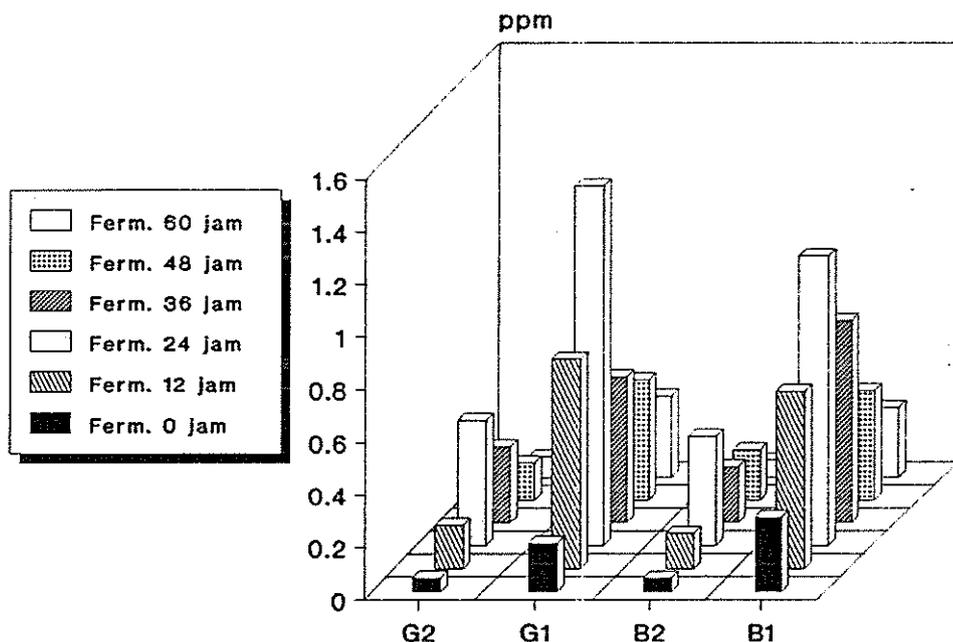


Gambar 21. Perubahan kandungan aflatoksin pada oncom yang dikontaminasi *A. flavus* 10^6 spora/ml/100 g

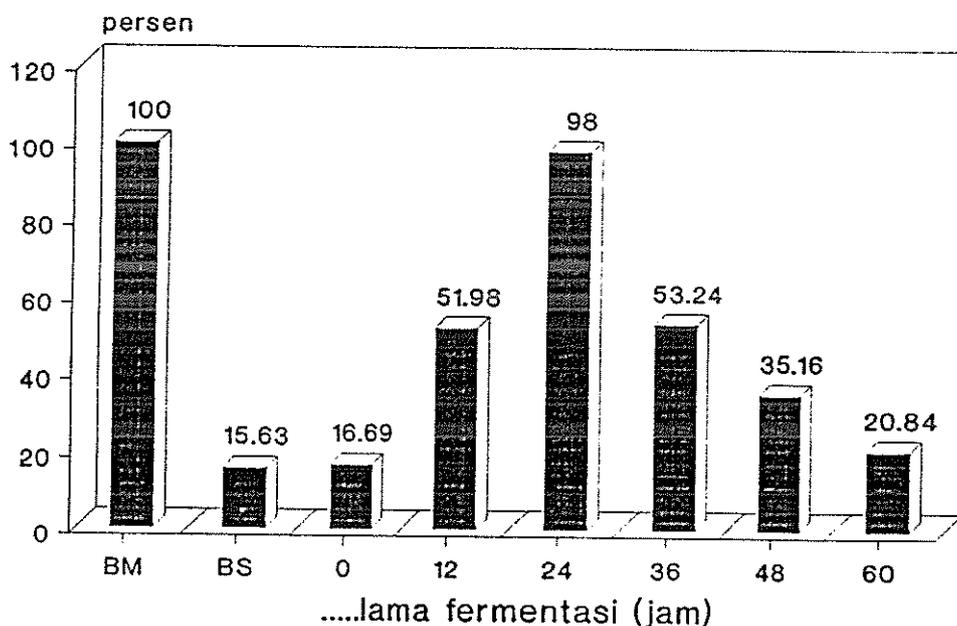


BM•bungkil mentah
BS•bungkil steril

Gambar 22. Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom yang dikontaminasi *A. flavus* 10^6 ml/100 g



Gambar 23. Perubahan kandungan aflatoksin oncom yang dikontaminasi *A. flavus* 10^8 spora/ml/100 g



BM•bungkil mentah
BS•bungkil steril

Gambar 24. Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom yang dikontaminasi *A. flavus* 10^8 spora/ml/100 g

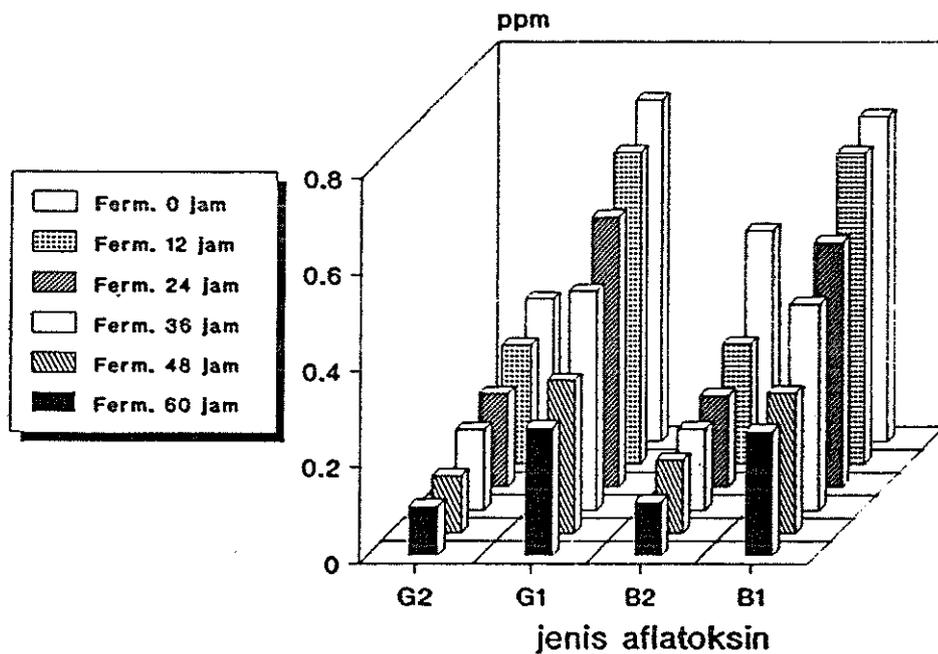
Dari hasil di atas diperoleh bahwa kandungan aflatoksin oncom kontrol (tanpa inokulasi *R. oligosporus*) menurun sampai 11.25 persen setelah bungkil mentah disterilisasi, dan meningkat dari fermentasi 12 jam sampai inkubasi 48 jam, hingga akhirnya turun kembali setelah inkubasi 60 jam. Kandungan aflatoksin contoh akhir menjadi 75.37 persen dari contoh awal.

Perlakuan kontaminasi *A. flavus* sebanyak 10^2 , 10^4 , 10^6 , dan 10^8 spora/ml yang diinokulasi *R. oligosporus* 10^6 spora/ml pada bungkil kacang tanah mempunyai pola yang hampir sama. Kandungan aflatoksin menurun pada bungkil kacang tanah yang disterilisasi. Selama fermentasi, kandungan aflatoksin meningkat pada fermentasi 24 jam dan selanjutnya menurun sampai pada fermentasi 60 jam. Tetapi kandungan aflatoksin pada contoh akhir berbeda untuk tiap perlakuan kontaminasi. Pada kontaminasi 10^2 spora/ml contoh akhir mengandung aflatoksin 12.09 persen, kontaminasi 10^4 spora/ml contoh akhir mengandung 10.78 persen, kontaminasi 10^6 spora/ml contoh akhir mengandung aflatoksin 19.22 persen, dan kontaminasi 10^8 spora/ml mengandung 20.84 persen dari konsentrasi awal.

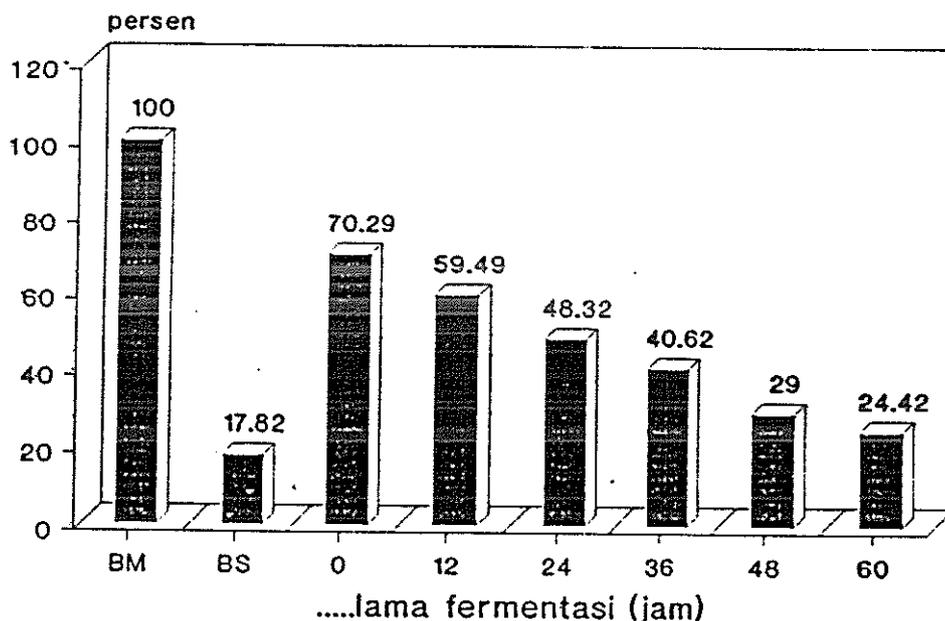
Dari hasil penelitian Wulan (1990) diperoleh kesimpulan bahwa dari semua taraf perlakuan (kontaminasi *A. flavus* 6 hari sebelum proses, tanpa kontaminasi, dan pada saat inokulasi kapang *R. oligosporus*) kandungan aflatoksin menurun hingga fermentasi 3 hari, yang disebabkan karena pengaruh perendaman, pengukusan, dan interaksi mikrobial dengan kapang oncom *R. oligosporus*.

Selanjutnya menurut Van veen dan Steinkraus (1970), kapang oncom *R. oligosporus* berkompetisi dengan *A. flavus* untuk memanfaatkan substrat yang terbatas dan juga mendegradasi aflatoksin yang dihasilkannya. Dikatakannya pula bahwa kapang oncom *R. oligosporus* maupun *N. sitophila* tidak menghasilkan aflatoksin, dan sebaliknya dapat menurunkan kandungan aflatoksin sampai setengahnya dalam bungkil kacang tanah.

Untuk mengetahui adanya degradasi aflatoksin oleh *R. oligosporus* dibuat oncom yang dikontaminasi aflatoksin (Lampiran 6). Dari Gambar 25 dan 26, diketahui bahwa kandungan aflatoksin menurun selama fermentasi 60 jam, dan setelah 60 jam hanya tinggal 24.42 persen.



Gambar 25. Perubahan kandungan aflatoksin oncom yang dikontaminasi aflatoksin sebanyak 10 ppm



BM•bungkil mentah
BS•bungkil steril

Gambar 26. Pola persen penurunan kandungan aflatoksin pada oncom yang dikontaminasi aflatoksin sebanyak 10 ppm

Hasil analisis sidik ragam untuk keenam jenis oncom dengan perlakuan berbeda sangat nyata pada taraf 1 % dan 5 % yang menunjukkan adanya pengaruh tahap proses fermentasi, dan antara kontrol dengan perlakuan terhadap kandungan aflatoksin.

Dilakukan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) untuk mengetahui tahap-tahap fermentasi yang memberikan pengaruh yang nyata terhadap kandungan aflatoksin. Pada oncom kontrol pada taraf 1 % terdapat perbedaan yang sedikit nyata antara fermentasi 48 jam dengan fermentasi 60 jam, bungkil mentah dan fermentasi 36 jam. Akan tetapi sangat nyata antara fermentasi 48 jam dengan bungkil steril, fermentasi 0 jam, fermentasi 12 jam, dan fermentasi 24 jam. Pada taraf 5 %, fermentasi 48 jam sedikit berbeda dengan fermentasi 60 jam dan bungkil steril, akan tetapi mempunyai perbedaan yang sangat nyata antara fermentasi 48 jam dengan bungkil steril, fermentasi 0 jam sampai fermentasi 36 jam.

Pada perlakuan kontaminasi *A. flavus* 10^2 spora/ml dengan inokulasi *R. oligosporus*, taraf 1 % dan 5 % memberikan perbedaan kandungan aflatoksin yang sangat nyata antara bungkil mentah dengan bungkil steril dan tahap-tahap

fermentasi 0 jam sampai 60 jam. Juga adanya perbedaan sangat nyata antara fermentasi 24 jam dengan fermentasi 36 jam, dan fermentasi 36 jam dengan bungkil steril, fermentasi 0 jam, 12 jam, 48 jam, dan 60 jam.

Pada oncom 3 (kontaminasi *A. flavus* 10^6 spora/ml), taraf 1 % dan 5 % menunjukkan perbedaan tidak begitu nyata antara kandungan afalatoksin pada bungkil mentah dengan fermentasi 24 jam, fermentasi 12 jam dengan 48 jam, dan fermentasi 0 jam dengan bungkil steril dan fermentasi 60 jam. Tetapi mempunyai perbedaan yang sangat nyata antara bungkil mentah, fermentasi 24 jam dengan fermentasi 36 jam, fermentasi 36 jam dengan fermentasi 12 jam dan 48 jam, fermentasi 12 jam dan 48 jam dengan bungkil steril, fermentasi 0 jam dan 60 jam.

Pada oncom keempat (kontaminasi *A. flavus* 10^8 spora/ml) dengan taraf 1 % dan 5 %, bungkil mentah dan fermentasi 24 jam mempunyai perbedaan yang sangat nyata dengan fermentasi 36 jam, fermentasi 36 jam berbeda nyata dengan fermentasi 12 jam dan 48 jam, dan fermentasi 48 jam berbeda nyata dengan fermentasi 0 jam, 60 jam dan bungkil steril. Tetapi tidak terjadi perbedaan yang

nyata antara kandungan aflatoksin bungkil mentah dengan fermentasi 24 jam, fermentasi 36 jam dengan fermentasi 12 jam dan 48 jam, fermentasi 0 jam dengan bungkil steril dan fermentasi 60 jam.

Untuk mengetahui perbedaan antara oncom kontrol dengan oncom yang mendapat perlakuan kontaminasi, dilakukan analisis sidik ragam dua arah. Dari hasil analisis sidik ragamnya diperoleh bahwa pada taraf 1 % dan 5 % terjadi perbedaan yang sangat nyata antara kandungan aflatoksin pada oncom kontrol (tanpa inokulasi *R. oligosporus*), kontaminasi *A. flavus* 10^6 dan 10^8 dengan kontaminasi *A. flavus* 10^4 dan 10^2 . Tetapi tidak adanya perbedaan kontaminasi *A. flavus* pada taraf 1 % antara kontaminasi *A. flavus* 10^8 dengan 10^6 dan antara 10^4 dengan 10^6 , sedangkan pada taraf 5% terdapat perbedaan yang nyata antara kontaminasi 10^6 spora/ml dan kontaminasi 10^8 spora/ml, dengan kontaminasi 10^4 spora/ml dan kontaminasi 10^2 spora/ml.

Untuk oncom yang dikontaminasi aflatoksin pada taraf 1 % dan 5 % (Lampiran 13) terjadi perbedaan nyata antara bungkil mentah dengan bungkil steril dan fermentasi 12 jam sampai 60 jam, sedangkan untuk taraf-taraf fermentasi

tidak begitu berbeda nyata baik pada taraf 1 % maupun 5 %.

Selain itu menurut Bullerman et al. (1983) produksi aflatoksin oleh *A. flavus* lebih sedikit bila ditumbuhkan secara bersama-sama dengan *A. niger* pada kacang tanah segar. Kapang lainnya yang dapat menghambat produksi aflatoksin oleh *A. flavus* maupun *A. parasiticus* adalah *A. oryzae* dan *R. nigricans*.

3. Bungkil Kacang Tanah Mentah

Bungkil kacang tanah mentah ternyata telah mengandung aflatoksin cukup tinggi dengan total kandungan 5.2651 ppm pada oncom kontrol, sedangkan pada oncom 1, 2, 3, 4, dan 5 masing-masing adalah 3.8464 ppm, 4.1286 ppm, 3.3427 ppm, 3.4440 ppm dan 3.0204 ppm.

Cemaran aflatoksin pada bungkil kacang tanah ini sebagian besar juga berasal dari kacang tanah asalnya. Panen sebelum waktunya serta penyimpanan di tempat lembab dan terbuka memudahkan terjadinya kontaminasi aflatoksin (Anggraini, 1990). Selanjutnya menurut Woodroof (1971) adanya aflatoksin dihubungkan dengan keadaan kacang tanah yang pecah-pecah dan



berlubang, baik karena serangan serangga atau kerusakan oleh jamur, dan kerusakan dalam proses pengolahan. Kacang tanah yang mengalami pencemaran biasanya lebih gelap, mempunyai rasa pahit, dengan aroma yang tidak disukai.

Muhilal et al. (1971) meneliti kandungan aflatoksin pada kacang tanah dan hasil olahannya dan mendapatkan bahwa lima dari tujuh sampel oncom hitam yang dibuat dari bungkil kacang tanah mengandung aflatoksin dengan kadar "trace" sampai 1800 ppb. Sebagai pembandingan telah dianalisis pula enam sampel oncom merah yang dibuat dengan menggunakan ampas tahu, dan ternyata semuanya tidak mengandung aflatoksin.

Menurut Sanders (1983) kadar aflatoksin total tertinggi yang diperkenankan di dalam bahan pangan adalah 40 - 50 ppb (ug/kg). Menurut FAO/WHO, kadar aflatoksin yang dapat ditolerir dalam bahan pangan tidak lebih dari 30 ppb.

4. Proses Sterilisasi

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa proses sterilisasi bungkil kacang tanah mentah dapat menurunkan kandungan afaltoksin total (rata-rata) sampai 13 % dari kandungan awal. Sterilisasi bungkil kacang tanah mentah yang

dilakukan pada 121°C selama 20 menit dapat mereduksi sampai kandungan aflatoksin G_2 sebesar 9.6 %, G_1 sebesar 9.0 %, B_2 sebesar 10.3 %, dan B_1 20.0 %. Laju reduksi ini tergantung pada kadar aflatoksin awalnya.

Penelitian-penelitian terdahulu mengenai destruksi aflatoksin dengan pemanasan telah dilakukan oleh Lee et al. (1968). Pada suhu 150°C selama 30 menit, dapat mereduksi aflatoksin B_1 dan B_2 , masing-masing sebesar 80 % dan 60 %. Penelitian Lee lebih lanjut mengenai pengaruh penyangraian kacang tanah menemukan bahwa rata-rata reduksi aflatoksin mencapai 43 - 83 %, tergantung pada kondisi penyangraian dan kandungan aflatoksin pada kacang tanah mentah.

Menurut Feuell (1966) pada waktu pemasakan total penurunan kapang lebih besar dibandingkan dengan penurunan kandungan aflatoksin, karena umumnya aflatoksin bersifat lebih stabil sampai mencapai titik cairnya 250°C . Selanjutnya dari hasil penelitian Roedjito et al. (1972) proses pemasakan tidak menghilangkan aflatoksin pada oncom yang digoreng, sebab toksin ini mempunyai titik lebur antara 250°C - 270°C dan tidak mudah larut dalam air.

Laju destruksi aflatoksin akibat pemanasan pada biji-bijian penghasil minyak akan meningkat sesuai dengan peningkatan kadar air dan lama waktu pemanasan, akan tetapi laju destruksi tersebut cenderung tetap setelah 2 jam pemanasan. Pemasakan pada kadar air yang tinggi sekalipun, tidak akan dapat mengurangi kandungan aflatoksin sampai ke tingkat yang dapat diterima, bahkan sebaliknya pemanasan yang terlalu lama akan berakibat buruk terhadap kualitas protein dan ketersediaan lisin (Dollear, 1969).

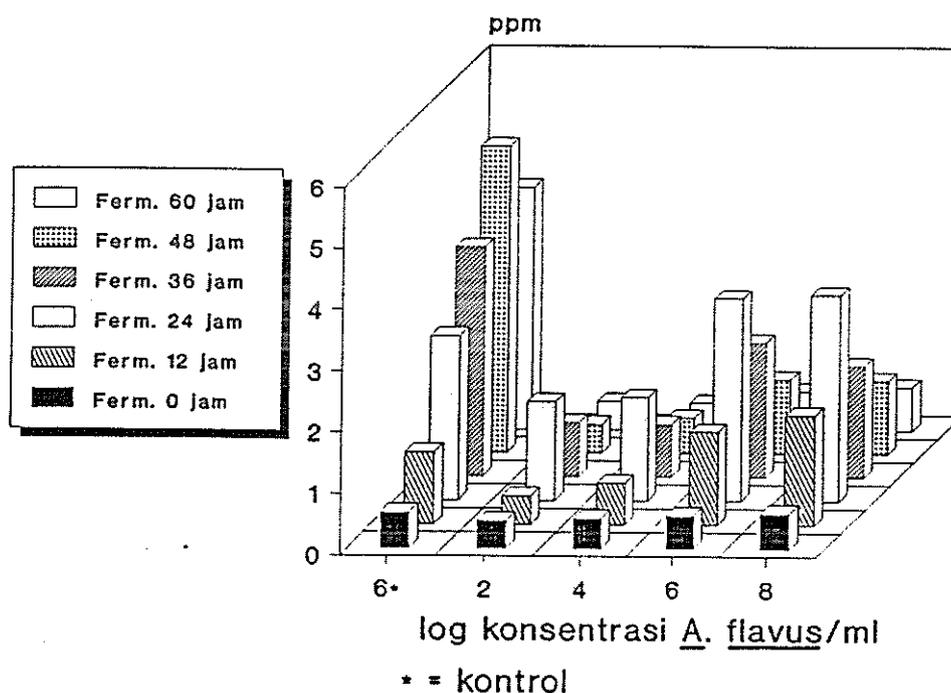
5. Proses Fermentasi

Penurunan kandungan aflatoksin selama fermentasi mempunyai pola yang hampir sama pada oncom kontrol maupun oncom yang mendapat perbedaan jumlah kontaminasi *A. flavus*. Gambar 27 menunjukkan pengaruh kontaminasi *A. flavus* terhadap kandungan aflatoksin selama fermentasi untuk oncom kontrol dan oncom 1 - 4.

Setelah fermentasi 12 jam hingga 24 jam kandungan aflatoksin meningkat pada semua perlakuan, dan menurun mulai fermentasi 36 jam sampai fermentasi 60 jam pada oncom yang diinokulasi kapang *R. oligosporus*. Menurut Edi (1988) pada oncom merah *A. flavus* mampu

memproduksi aflatoksin pada 12 jam pertama dan berlangsung terus sampai cukup banyak *N. sitophila* yang tumbuh, sehingga terjadi interaksi mikrobial yang dapat menurunkan kadar aflatoksin.

Selain itu beberapa spora kapang yang dapat tahan pada suhu tinggi (setelah sterilisasi) akan tetap hidup dan berkembang biak kembali dengan cepat selama inkubasi. Oleh karena itu substrat yang ada dapat dipergunakan secara maksimal oleh kapang *A. flavus* untuk tumbuh.



Gambar 27. Pengaruh kontaminasi *A. flavus* terhadap kandungan aflatoksin selama fermentasi

dimulai setelah 3 jam fermentasi pada suhu 37°C . Jika oksigen yang dibutuhkan berlebih maka *R. oligosporus* akan menghasilkan oncom dengan miselium berwarna hitam setelah 48 jam fermentasi.

Menurut Steinkraus et al. (1972) pertumbuhan maksimum *R. oligosporus* dicapai pada suhu 37°C dan proses fermentasi selesai dalam waktu 24 jam. Sedangkan *N. sitophila* mempunyai suhu optimum pada 30°C dengan lama fermentasi 35- 40 jam. Selanjutnya menurut Van veen dan Steinkraus (1970) kapang *R. oligosporus* dapat menurunkan kandungan aflatoksin sebesar 60- 70 %, dan sebagai pembanding kapang *N. sitophila* dapat menurunkan kandungan aflatoksin sebesar 50% pada bungkil kacang tanah.

Dari hasil diatas jelas bahwa pengolahan bungkil kacang tanah menjadi oncom dengan menggunakan kapang *R. oligosporus* dapat menurunkan kandungan aflatoksin.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tahap-tahap fermentasi oncom yang dikontaminasi *A. flavus* sebanyak 10⁶ spora/ml (sebagai kontrol) menghasilkan kandungan aflatoksin yang meningkat dari fermentasi 12 jam sampai fermentasi 48 jam, dan menurun pada fermentasi 60 jam. Kandungan aflatoksin akhir adalah 3.96 ppm atau 75.37 % dari bungkil kacang tanahnya.

Kontaminasi *A. flavus* pada saat inokulasi *R. oligosporus* 10⁶ spora/ml, disetiap perlakuan kontaminasi (10², 10⁴, 10⁶, 10⁸ spora/ml) mempunyai pola yang hampir sama, yaitu kandungan aflatoksin meningkat pada fermentasi 24 jam dan selanjutnya menurun pada fermentasi 36 jam sampai 60 jam. Kandungan aflatoksin akhir untuk kontaminasi 10² spora *A. flavus*/ml adalah 12.09 %; kontaminasi 10⁴ spora/ml adalah 10.78 %, kontaminasi 10⁶ spora/ml adalah 19.22 %, dan kontaminasi 10⁸ spora/ml adalah 20.84 % dari kandungan awalnya. Pada konsentrasi *A. flavus* lebih dari 10⁴ spora/ml, semakin tinggi konsentrasi penurunan kandungan aflatoksin semakin kecil. Laju destruksi aflatoksin pada bungkil kacang tanah mentah yang disterilisasi pada suhu 121°C dalam waktu 20 menit untuk aflatoksin G₂ sebesar 9.6 %, G₁ sebesar 9.0 %, B₂ sebesar 10.3 %, dan B₁ 20.0 %. Laju destruksi aflatoksin ini tergantung dari kadar aflatoksin awalnya.

Cemaran aflatoksin pada bungkil kacang tanah disebabkan oleh kontaminasi aflatoksin pada kacang tanah mentahnya. Karena itu diperlukan beberapa upaya untuk menanggulangi masalah aflatoksin. Seperti di Amerika Serikat perdagangan dan pengolahan kacang tanah diatur oleh National Peanut Council (1969). Kacang tanah boleh diperdagangkan apabila memenuhi syarat dimana kacang tanah dan hasil olahannya memenuhi standar kualitas yang ditentukan oleh Peanut Marketing Agreement, antara lain kadar aflatoksin kurang dari 40 ppb.

Disarankan agar diadakan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan aflatoksin pada bahan pangan pangan lainnya yang bahan bakunya mudah terkontaminasi oleh aflatoksin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, S. 1990. Pengaruh lama penyimpanan dan jenis kemasan terhadap kontaminasi aflatoksin pada kacang tanah. *Media Teknol. Pangan*, vol 4 : 1.
- Betina, V. 1984. Mycotoxins as secondary metabolites. Di dalam V. Betina (ed.). *Mycotoxins, Production, Isolation, Separation and Purification*. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.
- Beuchat, L.R. dan R.E. Worthington. 1974. Changes in the lipid content of fermented peanuts. *J. Agric. Food Chem.* 22 : 509 - 512.
- Beuchat, L.R. 1979. *Food and Beverage Mycology*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut.
- Blaney, B.J., C.J. Moore dan A.L. Tyler. 1984. Mycotoxins and fungal damage in maize harvested during 1982 in far North Queensland. *Aust. J. Agric. Res.*, 35 : 463 - 471.
- Bullerman, L.B. 1978. Methods for detecting mycotoxins in food and beverages. Di dalam L.R. Beuchat (ed.). *Food and Beverage Mycology*. AVI Publ., Co., Inc., Westport, Connecticut.
- Bullerman, L.B., L.L. Schroeder dan K.Y. Park. 1983. Formation and control of mycotoxins in food. *J. of Food Protec.* Vol. 47 : 637 - 646.
- Busby, G.F., dan G.N. Wogan. 1979. Mycotoxins and mycotoxicoses. Di dalam H. Rieman dan F.L. Bryan (Eds.). *Food Borne Infection and Intoxications*. Academic Press, New York.
- Butler, W.H. 1979. Aflatoxin. Di dalam I.F.H. Purchase (ed.). *Mycotoxins*. Elsevier Scientific Publisher Co., Amsterdam.
- Cooke, W.B. 1979. *The Ecology of Fungi*. CRC Press, Cleveland, Ohio.



- Cucullu, A.F., L.S. Lee, R.Y. Mayne dan L.A. Goldblatt. 1966. Determination on aflatoxin in individual peanuts and peanut sections. Di dalam L.A. Goldblatt (ed.). Aflatoxin : Scientific Background, Control and Implication. Academic Press, New York.
- Dickens, J.W., dan H.E. Pattee. 1966. The effect of time, temperature and moisture on aflatoxin production in peanuts inoculated with toxin strain of *A. flavus*. Trop. Sci. 8 : 11 - 22.
- Diener, U.L., dan N.D. Davis. 1969. Aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. Di dalam L.A. Goldblatt (ed.). Aflatoxin Scientific Background, Control and Implication. Academic Press, New York.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R.I. 1981. Daftar Komposisi Bahan Makanan. Bharatara Karya, Jakarta.
- Dollear, F.G. 1969. Detoxification of aflatoxin in feeds and food. Di dalam L.A. Goldblatt (ed.). Aflatoxin Scientific Background, Control and Implication. Academic Press, New York.
- Edi. 1988. Perubahan Kandungan Aflatoksin Selama Tahap-tahap Fermentasi Oncom. Skripsi. Fakultas teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Fardiaz, S. 1987. Mikrobiologi Pangan. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Feuell, A.J. 1966. Aflatoxin in groundnuts. Di dalam L.A. Goldblatt. (ed.). Aflatoxin : Scientific Background, Control and Implication. Academic Press, New York.
- Frazier, W.C., dan D.C. Westhoff. 1978. Food Mycrobio logy. Tata McGraw Hill Publ. Co., Ltd., New Delhi.
- Goldblatt, L.A. 1969. Aflatoxin : Scientific Back-ground, Control and Implication. Academic Press, New York.
- Gray, W.D. 1970. The Use of Fungi As Food and in Food Processing. CRC Press, Cleveland, Ohio.
- Gritter, R.J., J.M. Bobbit dan A.E. Schawarting. 1991. Pengantar Kromatografi (edisi ke 2). Penerbit ITB. Bandung.

- Hasseltine, C.W., M. Smith, B. Bradle, Ko Swan Djien. 1963. Investigation of Tempeh and Indonesian Food Development in Industrial Microbiologi. Vol. 14.
- Heatcote, J.G. 1984. Aflatoxin and related toxins Di dalam. V. Betina (ed.). Mycotoxins, Production, Isolation, Speration and Purification. Elsevier Science Publisher B.V., Amesterdam.
- Hermana dan Sutedja. 1971. Cara baru pembuatan tempe. Penelitian Gizi dan Makanan, Jilid I. Balai Penelitian Gizi Unit Sembodja. Departemen Kesehatan R.I.
- Herst, J. 1991. The 25th Intl. Supelco Catalog. Supelco Inc., Supelco Park, Beleffonte.
- Holmquist, G.U., H.W. Walker dan H.M. Stahr. 1983. Influence of temperatur, pH, water activity and antifungal agents on growth of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. J. Food Sci. 48 : 778.
- Hunt, D.C. 1980. Determination of mycotoxins. Di dalam R. Macrae (ed.). HPLC in Food Analysis. Academic Press, Inc., London.
- Jay, J.M. 1978. Modern Food Microbiology. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Jenie, B.S.L., dan D. Muchtadi. 1978. Mikrobiologi Hasil Pertanian. Departemen P dan K, Jakarta.
- Landers, K.E., N.D. Davis, U.L. Diener. 1967. Influence of atmospheric gases on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in peanuts. Phytopatology 57 : 1086.
- Meutia, A.A. 1987. Pengkajian Pengaruh Bahan Baku dan Jenis Pembentukan Oncom. Thesis. Jurusan Biologi, ITB, Bandung.
- Muhilal, D. Karyadi, D.D. Prawiranegara. Kadar aflatoksin pada kacang tanah dan hasil olahannya. Penelitian Gizi dan Makanan. 8 : 87-92
- Reed, G. 1982. Industrial Microbiology. AVI Publ. Co., Inc., Westport, Connecticut.
- Roedjito, D., Muhilal, Harlinah S.P.W. dan D. Karyadi. 1972. Aflatoksin dalam kacang tanah, minyak, bungkil dan oncom. Penelitian Gizi dan Makanan. 2 : 80-87.



- Sanders, T.H. 1983. The aflatoxin crisis. Di dalam J.G. Woodroof (ed.). Peanuts, Production, Processing, Products. AVI Publ., Co., Inc., Westport, Connecticut.
- Schindler, A.F. 1977. Temperature limits for production of aflatoxin by twenty-five isolates of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. J. Food Protection. 40 : 39.
- Shank, R.C. 1976. The role of aflatoxin in human disease. Di dalam J.V. Rodrick (ed.). Mycotoxin and Other Fungal Related Food Problems. American Chemical Society's Press, Washington.
- Steinkraus, K.H., B.H. Yap, J.V. van Buren, M.I. Providenti dan D.B. Hard. 1960. Studies on Tempeh an Indonesian Fermented Soybean Food. Food Res. 25(6) : 777 - 778.
- Steinkraus, K.H., C.J. Lee, dan P.A. Buch. 1972. Soybean fermentation on by the oncom mold *Neurospora*. Food Technol. 19 : 119-120.
- Steinkraus, K.H. 1983. Handbook of Indigenous Fermented Foods. Marcel-Dekker Inc., New York and Bassel.
- Stubblefield, R.D. 1979. Mycotoxin. Di dalam J.C. Touchstone dan J. Sherma (eds.). Densitometry in Thin Layer Chromatography, Practice and applications. John Willey and Sons, New York.
- Sudarti, T.S. 1986. Pengaruh Jenis Substrat dan Lama Fermentasi Terhadap Kandungan "dietary fiber" oncom. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Suprpto, E.S.M. 1981. Suatu alternatif analisa aflatoxin dengan "High Performance Liquid Chromatography". Proceeding Seminar Nasional Metoda Analisa Kimia. 19-21 Mei 1981, Bandung.
- Sutedja, L. Roestamsjah, dan E.S.M. Suprpto. 1979. Lipid Hydrolysis during tempeh fermentation. Di dalam International Symposium on Microbiological Aspect Food Storage, Processing and Fermentation in Tropical Asia. FTDC, IPB.
- Van veen, A.G., D.C.W. Graham dan K.H. Steinkraus. 1968. Fermented peanut presscake. Cereal Sci. Today. 13 : 96-98.

- Van veen, A.G., dan K.H. Steinkraus. 1970. Nutritive value and wholesomeness of fermented food. J. Agric. Food Chem. 18 : 575.
- Wang, H.L., dan C.W. Hasseltine. 1965. Studies on the exytracellular proteolitik enzymes of *Rhizopus oligosporus*. Can. J. Microbiol. 11 : 727-732.
- Went. 1965. Di dalam Han June (ed.). Pembuatan Tempe dan Oncom Serta Nilai Gizinya. Skripsi. ITB, Bandung.
- Williams, S. 1984. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists. AOAC, Inc., Arlington, Virginia.
- Woodroof, J.G. 1983. Peanuts, Production, Processing, Products. AVI Publ. Co., Inc., Westport, Connecticut.
- Wulan, S. 1990. Pengaruh Proses Fermentasi Bungkil Kacang Tanah oleh *R. oligosporus* Terhadap Kandungan Aflatoksin. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.



Halaman ini merupakan bagian dari dokumen yang diterbitkan oleh IPB University. Untuk informasi lebih lanjut, silakan kunjungi website kami di www.ipb.ac.id.
 IPB University
 Institut Pertanian Bogor



LAMPIRAN



Lampiran 1. Kandungan aflatoksin pada oncom kontrol
(kontaminasi *A. flavus* 10^6 spora/ml tanpa
inokulasi *R. oligosporus*)

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁	Total
	(ppm)				
Bungkil mentah	0.3698	3.0331	0.3665	1.4957	5.2651
Bungkil steril	0.0348	0.2852	0.0418	0.2305	0.5923
Ferm. 0 jam	0.0385	0.2205	0.0686	0.2485	0.5761
Ferm. 12 jam	0.1298	0.4575	0.1493	0.4297	1.1663
Ferm. 24 jam	0.2347	1.2580	0.2835	0.8982	2.6834
Ferm. 36 jam	0.3505	1.8455	0.3951	1.1662	3.7573
Ferm. 48 jam	0.6859	2.0738	0.6519	1.5972	5.0088
Ferm. 60 jam	0.4419	1.7930	0.5817	1.1517	3.9683

Lampiran 2. Kandungan aflatoksin pada oncom 1
(kontaminasi *A. flavus* 10^2 spora/ml,
R. oligosporus 10^6 spora/ml)

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁	total
	(ppm)				
Bungkil mentah	0.4997	1.5678	0.4636	1.3153	3.8464
Bungkil steril	0.0365	0.1198	0.0316	0.2444	0.4323
Ferm. 0 jam	0.0444	0.1206	0.0367	0.2464	0.4481
Ferm. 12 jam	0.0713	0.1794	0.0708	0.1390	0.4605
Ferm. 24 jam	0.2022	0.6545	0.1836	0.5737	1.6140
Ferm. 36 jam	0.1188	0.3199	0.1118	0.3351	0.8856
Ferm. 48 jam	0.0444	0.1205	0.0435	0.2651	0.4735
Ferm. 60 jam	0.0441	0.1187	0.0427	0.2597	0.4652

Lampiran 3. Kandungan aflatoksin pada oncom 2
(kontaminasi *A. flavus* 10^4 spora/ml,
R. oligosporus 10^6 spora/ml)

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁	total
	(ppm)				
Bungkil mentah	0.4716	1.6213	0.4936	1.5287	4.1286
Bungkil steril	0.0384	0.1153	0.0397	0.2764	0.4698
Ferm. 0 jam	0.0434	0.1341	0.0454	0.2613	0.4842
Ferm. 12 jam	0.0727	0.2211	0.0754	0.3058	0.6750
Ferm. 24 jam	0.1842	0.6709	0.1817	0.6525	1.6893
Ferm. 36 jam	0.0972	0.3114	0.0966	0.3576	0.8628
Ferm. 48 jam	0.0612	0.1995	0.0616	0.2584	0.5807
Ferm. 60 jam	0.0462	0.1400	0.0468	0.2122	0.4452

Lampiran 4. Kandungan aflatoksin pada oncom ζ
 (kontaminasi *A. flavus* 10^6 spora/ml,
R. oligosporus 10^6 spora/ml)

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁	total
	(ppm)				
Bungkil mentah	0.3184	1.4517	0.2973	1.2753	3.3427
Bungkil steril	0.0404	0.1234	0.0408	0.3213	0.5259
Ferm. 0 jam	0.0411	0.1278	0.0420	0.3280	0.5389
Ferm. 12 jam	0.1512	0.6541	0.1425	0.5651	1.5129
Ferm. 24 jam	0.3100	1.4407	0.2927	1.2716	3.3150
Ferm. 36 jam	0.2218	0.9370	0.2114	0.8377	2.2079
Ferm. 48 jam	0.1398	0.4898	0.1365	0.4637	1.2298
Ferm. 60 jam	0.0931	0.2456	0.0701	0.2337	0.6425

Lampiran 5. Kandungan aflatoksin pada oncom 4
(kontaminasi *A. flavus* 10^8 spora/ml,
R. oligosporus 10^6 spora/ml)

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁	total
	(ppm)				
Bungkil mentah	0.4889	1.3548	0.4167	1.1836	3.4440
Bungkil steril	0.0499	0.1662	0.0482	0.2704	0.5347
Ferm. 0 jam	0.0541	0.1861	0.0520	0.2828	0.5750
Ferm. 12 jam	0.1657	0.7982	0.1530	0.6738	1.7907
Ferm. 24 jam	0.4800	1.3721	0.4178	1.1037	3.3736
Ferm. 36 jam	0.2916	0.5572	0.2161	0.7688	1.8337
Ferm. 48 jam	0.1434	0.4574	0.1916	0.4150	1.2074
Ferm. 60 jam	0.0805	0.3082	0.0659	0.2633	0.7179



Lampiran 6. Kandungan aflatoksin pada oncom 5 (kontaminasi Aflatoksin G_1 , G_2 , B_1 dan B_2 dengan konsentrasi total 10^6 ppm, *R. oligosporus* 10^6 spora/ml)

Tahap proses	G_2	G_1	B_2	B_1	total
	(ppm)				
Bungkil mentah	0.3331	1.2770	0.3090	1.1013	3.0204
Bungkil steril	0.0365	0.1144	0.0380	0.3549	0.5437
Ferm. 0 jam	0.2984	0.7096	0.4380	0.6770	2.1230
Ferm. 12 jam	0.2494	0.6488	0.2521	0.6478	1.7981
Ferm. 24 jam	0.1994	0.5606	0.1907	0.5088	1.4595
Ferm. 36 jam	0.1655	0.4653	0.1675	0.4286	1.2269
Ferm. 48 jam	0.1170	0.3176	0.1500	0.2909	0.8755
Ferm. 60 jam	0.1028	0.2653	0.1124	0.2571	0.7376

Lampiran 7. Hasil sidik ragam oncom kontrol

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁
Bungkil mentah	100.00	100.00	100.00	100.00
Bungkil steril	9.41	9.40	11.40	15.41
Ferm. 0 jam	10.41	7.30	18.72	16.16
Ferm. 12 jam	35.10	15.08	40.74	28.73
Ferm. 24 jam	63.47	41.48	77.35	60.05
Ferm. 36 jam	94.78	60.84	107.80	77.97
Ferm. 48 jam	185.47	68.37	177.87	106.78
Ferm. 60 jam	119.50	59.11	158.72	77.00

Sumber	db	JK	KT	F
Perlakuan	7	58924.750	8471.821	11.239**
Galat	24	17975.438	748.977	
Total	31	76900.188	2480.651	

F.05 = 2.42

F.01 = 3.50

Duncan's Multiple Range Test

Tahap proses	nilai tengah	Rangking pada taraf	
		0.01	0.05
Ferm. 48 jam	134.6225	A	A
Ferm. 60 jam	103.5825	AB	AB
Bungkil mentah	100	AB	AB
Ferm. 36 jam	85.3475	ABC	B
Ferm. 24 jam	60.5875	BCD	BC
Ferm. 12 jam	29.9125	CD	CD
Ferm. 0 jam	13.26	D	D
Bungkil steril	11.405	D	D

Lampiran 8. Hasil sidik ragam oncom 1

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁
Bungkil mentah	100.00	100.00	100.00	100.00
Bungkil steril	7.30	7.64	6.82	18.60
Ferm. 0 jam	8.88	7.70	7.92	18.73
Ferm. 12 jam	14.30	11.44	15.27	10.57
Ferm. 24 jam	40.46	41.75	39.60	43.62
Ferm. 36 jam	23.77	20.40	24.12	25.48
Ferm. 48 jam	8.88	7.70	9.40	20.16
Ferm. 60 jam	8.83	7.57	9.21	19.74

Sumber	db	JK	KT	F
Perlakuan	7	27102.543	3871.792	223.391**
Galat	24	415.965	17.332	
Total	31	27518.508	887.694	

$$F_{.05} = 2.42$$

$$F_{.01} = 3.50$$

Duncan's Multiple Range Test

Tahap proses	nilai tengah	Rangking pada taraf	
		0.01	0.05
Bungkil mentah	100	A	A
Ferm. 24 jam	41.3575	B	B
ferm. 36 jam	23.4425	C	C
Ferm. 12 jam	12.895	D	D
Ferm. 48 jam	11.535	D	D
Ferm. 60 jam	11.3375	D	D
Ferm. 0 jam	10.8075	D	D
Bungkil steril	10.09	D	D

Lampiran 9. Hasil sidik ragam oncom 2

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁
Bungkil mentah	100.00	100.00	100.00	100.00
Bungkil steril	8.14	7.11	8.04	18.08
Ferm. 0 jam	9.20	8.27	9.20	17.09
Ferm. 12 jam	15.42	13.64	15.30	20.00
Ferm. 24 jam	39.10	41.38	36.81	42.68
Ferm. 36 jam	20.61	19.21	19.57	23.39
Ferm. 48 jam	13.00	12.30	12.48	16.90
Ferm. 60 jam	9.80	8.64	9.48	13.88

Sumber	db	JK	KT	F
Perlakuan	7	26555.201	3793.600	423.018**
Galat	24	215.230	8.968	
Total	31	26770.432	863.562	

$$F_{.05} = 2.42$$

$$F_{.01} = 3.50$$

Duncan's Multiple Range Test

Tahap proses	nilai tengah	Rangking pada taraf	
		0.01	0.05
Bungkil mentah	100	A	A
Ferm. 24 jam	39.9925	B	B
Ferm. 36 jam	20.695	C	C
Ferm. 12 jam	16.09	CD	D
Ferm. 48 jam	13.67	D	DE
Ferm. 0 jam	10.94	D	E
Ferm. 60 jam	10.45	D	E
Bungkil steril	11.3425	D	E

Lampiran 10. Hasil sidik ragam oncom 3

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁
Bungkil mentah	100.00	100.00	100.00	100.00
Bungkil steril	12.70	8.50	13.72	25.19
Ferm. 0 jam	12.91	8.80	14.13	25.72
Ferm. 12 jam	47.50	45.06	47.93	44.31
Ferm. 24 jam	97.36	99.24	98.45	99.71
Ferm. 36 jam	69.66	64.55	71.10	65.70
Ferm. 48 jam	43.91	33.74	45.91	36.36
Ferm. 60 jam	29.24	16.92	23.58	18.33

Sumber	db	JK	KT	F
Perlakuan	7	34005.828	4857.976	212.072**
Galat	24	549.773	22.907	
Total	31	34555.602	1114.697	

$$F_{.05} = 2.42$$

$$F_{.01} = 3.50$$

Duncan's Multiple Range Test

Tahap proses	nilai tengah	Rangking pada taraf	
		0.01	0.05
Bungkil mentah	100	A	A
Ferm. 24 jam	98.69	A	A
Ferm. 36 jam	67.7525	B	B
Ferm. 12 jam	46.2	C	C
Ferm. 48 jam	39.98	C	C
Ferm. 60 jam	22.0175	D	D
Ferm. 0 jam	15.39	D	D
Bungkil steril	15.0275	D	D

Lampiran 11. Hasil sidik ragam oncom 4

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁
Bungkil mentah	100.00	100.00	100.00	100.00
Bungkil steril	10.21	12.26	11.56	22.84
Ferm. 0 jam	11.06	13.74	12.48	24.00
Ferm. 12 jam	33.89	58.92	36.72	56.93
Ferm. 24 jam	98.20	101.28	100.26	93.25
Ferm. 36 jam	59.64	41.13	51.86	65.00
Ferm. 48 jam	29.33	33.76	46.00	35.06
Ferm. 60 jam	16.47	22.75	15.81	22.24

Sumber	db	JK	KT	F
Perlakuan	7	33787.211	4826.745	90.877**
Galat	24	1274.711	53.113	
Total	31	35061.922	1131.030	

$$F_{.05} = 2.42$$

$$F_{.01} = 3.50$$

Duncan's Multiple Range Test

Tahap proses	nilai tengah	Rangking pada taraf	
		0.01	0.05
Bungkil mentah	100	A	A
Ferm. 24 jam	98.2475	A	A
Ferm. 36 jam	54.4075	B	B
Ferm. 12 jam	46.615	BC	BC
Ferm. 48 jam	36.0375	C	C
Ferm. 60 jam	19.3175	D	D
Ferm. 0 jam	15.32	D	D
Bungkil steril	14.2175	D	D

Lampiran 12. Hasil sidik ragam pada oncom

Tahap proses	Kontaminasi				
	kontrol	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸
Bungkil mentah	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Bungkil steril	11.25	11.23	11.37	15.73	15.52
Ferm. 0 jam	11.90	11.64	11.73	16.12	16.70
Ferm. 12 jam	22.15	11.90	16.34	45.26	52.00
Ferm. 24 jam	51.30	30.00	40.91	99.17	98.00
Ferm. 36 jam	71.40	23.00	21.06	66.00	53.24
Ferm. 48 jam	95.13	12.30	14.06	36.74	35.05
Ferm. 60 jam	75.40	12.09	10.78	19.21	20.84

Sumber	db	JK	KT	F
Fermentasi	7	30645.156	4377.879	12.830**
Perlakuan	4	6805.703	1701.426	4.986*
Galat	28	9554.133	341.219	
Total	39	47004.992	1205.256	

$$F.01 = 3.36 \quad F.05 = 2.35 \quad (\text{Fermentasi})$$

$$F.01 = 4.07 \quad F.05 = 2.71 \quad (\text{Perlakuan})$$

Duncan's Multiple Range Test

Tahap proses	nilai tengah	Rangking pada taraf	
		0.01	0.05
Kontrol	59.81625	A	A
Kontaminasi 10 ⁸	49.7925	AB	A
Kontaminasi 10 ⁶	48.91875	AB	A
Kontaminasi 10 ⁴	28.27375	B	B
Kontaminasi 10 ²	26.555	B	B

Lampiran 13. Hasil sidik ragam pada oncom yang dikontaminasi aflatoksin

Tahap proses	G ₂	G ₁	B ₂	B ₁
Bungkil mentah	100.00	100.00	100.00	100.00
Bungkil steril	11.00	9.00	12.30	32.22
Ferm. 0 jam	90.00	55.60	141.75	61.47
Ferm. 12 jam	74.87	50.81	82.00	58.82
Ferm. 24 jam	59.86	44.00	61.72	46.20
Ferm. 36 jam	49.68	36.43	54.21	38.92
Ferm. 48 jam	35.12	24.87	48.54	26.41
Ferm. 60 jam	30.86	20.77	36.38	23.34

Sumber	db	JK	KT	F
Perlakuan	7	23967.578	3423.940	12.482**
Galat	24	6583.203	274.300	
Total	31	30550.781	985.509	

$$F_{.05} = 2.42$$

$$F_{.01} = 3.50$$

Duncan's Multiple Range Test

Tahap proses	nilai tengah	Rangking pada taraf	
		0.01	0.05
Bungkil mentah	100.	A	A
Ferm. 0 jam	87.205	AB	AB
Ferm. 12 jam	66.625	ABC	BC
Ferm. 24 jam	52.945	BCD	CD
Ferm. 36 jam	44.81	CDE	CD
Ferm. 48 jam	33.735	CDE	DE
Ferm. 60 jam	27.8375	DE	DE
Bungkil steril	16.13	E	E