

SKRIPSI

APLIKASI *Lactobacillus plantarum* sa28k UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus* DAN MEREDUKSI AFLATOKSIN SEBELUM PEMANGGANGAN DAN PEREBUSAN KACANG TANAH POLONG

Oleh :
WAHYU RATNANINGRUM
F02498045



2003
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR

Wahyu Ratnaningrum. F02498045. Aplikasi *Lactobacillus plantarum* sa28k untuk Menghambat Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan Mereduksi Aflatoksin sebelum Pemangangan dan Perebusan Kacang Tanah Polong. Betty Sri Laksmi Jenie dan Okky Setyawati Dharmaputra.

RINGKASAN

Bahan pangan yang dapat terkontaminasi oleh kapang (antara lain *Aspergillus flavus*) adalah kacang tanah dan hasil olahannya. Salah satu jenis racun yang dihasilkan oleh *A. flavus* adalah aflatoksin, dikenal sebagai salah satu penyebab terjadinya karsinoma hati primer bila dikonsumsi dalam jumlah rendah dan berlangsung dalam jangka waktu lama, serta dapat menyebabkan kematian bila dikonsumsi dalam dosis tinggi.

Bakteri asam laktat telah banyak digunakan dalam berbagai macam pengolahan makanan dan minuman untuk memperbaiki cita rasa dan memberi efek pengawetan pada produk fermentasi yang dihasilkan. Bakteri asam laktat ini mampu menghasilkan komponen antimikroba seperti asam organik (asam laktat, asam format dan asam asetat), bakteriosin diasetil dan hidrogen peroksida.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan *Lactobacillus plantarum* sa28k yang merupakan isolat lokal dari sauerkraut dalam mereduksi pertumbuhan *A. flavus* dan kandungan aflatoksin sebelum pemangangan dan perebusan kacang tanah polong, serta mengetahui pengaruh perendaman kacang tanah dalam BAL terhadap rasa, warna dan penampakan setelah pengolahan.

Pengujian terhadap sifat antimikotik BAL terhadap *A. flavus* dilakukan dengan cara merendam kacang tanah di dalam suspensi BAL selama t_1 , t_3 , t_5 dan t_7 jam. Hasil pengujian menunjukkan suspensi sel *L. plantarum* sa28k (k_2 sel/ml) mampu menurunkan populasi *A. flavus* setelah perendaman selama t_5 jam sebesar 1 satuan log atau aktivitas antimikotiknya sebesar 72.5 %. Supernatan bebas sel kurang efektif dalam mereduksi populasi *A. flavus*. Supernatan bebas sel pada t_3 jam pertama hanya mampu mereduksi populasi *A. flavus* kurang dari satu log. Suspensi sel BAL pada perendaman kacang tanah selama t_5 jam juga mampu menurunkan kandungan aflatoksin dari 114.29 ppb menjadi 39.07 ppb atau aktivitas antiaflatoksigeniknya sebesar 65.8 %.

Aplikasi BAL sebelum pengolahan kacang tanah panggang dan kacang tanah rebus tidak mengakibatkan rasa asam pada produk. Perendaman kacang tanah di dalam suspensi BAL mampu memperbaiki warna, penampakan dan rasa kacang tanah rebus, sedangkan pada kacang panggang hanya memperbaiki warna dan penampakannya. Rasa yang dihasilkan kacang tanah panggang kurang disukai oleh panelis.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

**APLIKASI *Lactobacillus plantarum* sa28k UNTUK MENGHAMBAT
PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus* DAN MEREDUKSI AFLATOKSIN
SEBELUM PEMANGGANGAN DAN PEREBUSAN KACANG TANAH POLONG**

Oleh :

WAHYU RATNANINGRUM

F02498045

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor**

2003

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR**

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**APLIKASI *Lactobacillus plantarum* sa28k UNTUK MENGHAMBAT
PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus* DAN MEREDUKSI AFLATOKSIN SEBELUM
PEMANGGANGAN DAN PEREBUSAN KACANG TANAH POLONG**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Oleh :

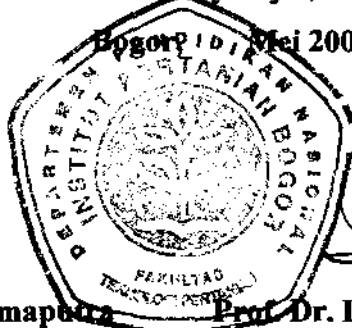
**WAHYU RATNANINGRUM
F02498045**

Dilahirkan di Sragen pada tanggal 2 Juli 1979

Tanggal lulus : 5 Mei 2003

Menyetujui,

Bogor, 5 Mei 2003



Dr. Okky Setyawati Dharmaputra

Dosen Pembimbing II



Prof. Dr. Ir. Betty Sri Laksmi Jenie, MS

Dosen Pembimbing I

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah yang telah memberikan rahmat, hidayah, rizki dan kemudahan sehingga penulis berhasil menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi dengan judul *APLIKASI *Lactobacillus plantarum* sa28k UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus* DAN MEREDUKSI AFLATOKSIN SEBELUM PEMANGGANGAN DAN PEREBUSAN KACANG TANAH POLONG.*

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN pada jurusan Teknologi Pangan dan Gizi di Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Betty Sri Laksmi Jenie, MS dan Dr. Okky Setyawati Dharmaputra selaku Dosen Pembimbing I dan II yang telah memberikan bimbingan, nasehat serta perhatiannya selama penelitian dan penulisan skripsi.
2. Ir. C.C. Nurwitri, DAA selaku Dosen Penguji yang telah berkenan meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan masukan kepada penulis.
3. Bapak dan Ibu tercinta yang tidak pernah berhenti memberikan motivasi (moral maupun material), limpahan kasih sayang dan doa selama penulis menyelesaikan studi.
4. Dewan Riset Nasional, melalui Proyek RUT VIII tahun 2001/2002 yang telah mendanai penelitian ini.
5. Riyadi Novendia, STP atas kesabarannya dalam memberikan semangat, nasehat, perhatian, serta kasih sayang selama penulis menyelesaikan skripsi.
6. Sahabat-sahabatku : Inne, Mas Asep, Wiwin, Romi, Yani, Mas Sulis, Yuliasri, dan Mas Kris yang telah mewarnai hari-hariku atas jalinan persahabatan yang tulus selama penulis menyelesaikan studi di Bogor.
7. Mbak Ari dan Mas Taufik atas bantuan, nasehat, dan jalinan persaudaraan selama ini.
8. Teman-teman satu bimbingan : Dyah, Fitri, Etri, Mbak Rida, Mbak Risma dan Mbak Nurjanah atas kerjasama dan kebersamaannya.



9. Teman-teman di Laboratorium Mikrobiologi : Jule', Rikdza, Nita, Nanda, Ruslan, Mbak Ida, Mbak Wiji.

10. Helmi, Kak Lia, Cici, Qoqom yang telah membantuku melalui masa-masa senang, susah dan bahagia di Bogor.

11. Staf SEAMEO BIOTROP terutama Mbak Santi dan Teh Irma atas bantuan dan kerjasamanya.

12. Bapak Rojak, Bapak Solikhin, Mbak Mar, Bibi Sari, Bibi Omah (alm) dan Staf Laboran : Bapak Sobirin, Bapak Mul, Bapak Wahid, Bapak Sidiq, Bapak Koko, Bapak Gatot, Ibu Rubiyah dan Mbak Ida atas segala bantuannya.

13. Semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini.

Akhirnya, penulis berharap semoga karya kecil ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan. Amin.

Bogor, Mei 2003

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	v
I. PENDAHULUAN	1
A. LATAR BELAKANG	1
B. TUJUAN PENELITIAN	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. KACANG TANAH	4
B. PRODUK KACANG TANAH	5
1. Kacang Tanah Panggang	5
2. Kacang Tanah Rebus	7
C. BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)	7
1. Sifat Pertumbuhan	7
2. Sifat Antimikotik dan Antiaflatoksigenik	9
D. ISOLAT BAL DARI SAUERKRAUT	10
E. KAPANG <i>Aspergillus flavus</i>	11
F. AFLATOKSIN	13
III. METODOLOGI PENELITIAN	16
A. BAHAN DAN ALAT	16
B. METODE PENELITIAN	16
1. Persiapan Sampel	17
2. Persiapan Kultur	17
a. Persiapan Suspensi Bakteri Asam Laktat	17
b. Persiapan Supernatan Bebas Sel BAL	18
c. Persiapan Kapang <i>A. flavus</i>	18

3. Penelitian Pendahuluan	18
a. Analisa Komposisi Kimia dan Mikroba Kacang Tanah Panggang dan Rebus	18
b. Penentuan Konsentrasi BAL untuk Perendaman Kacang Tanah Mentah Polong	18
4. Penelitian Utama	19
a. Penentuan Volume dan Waktu Perendaman Kacang Tanah Mentah Polong dengan Kultur BAL	19
b. Penentuan Potensi Antiaflatoksigenik BAL	19
c. Aplikasi BAL pada Proses Pengolahan Kacang Tanah Panggang dan Rebus	20
C. ANALISA	21
1. Analisa Mikroba	21
a. Penentuan Populasi Kapang pada Biji Kacang Tanah Panggang dan Populasi Khamir pada Biji Kacang Tanah Rebus	21
b. Penentuan Populasi BAL pada Kacang Tanah Mentah Polong	22
c. Penghitungan Spora Kapang dengan Metode Petroff-Hausser	23
2. Analisa Proksimat	24
a. Analisa Kandungan Aflatoksin dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis	24
b. Analisa Kadar Air dengan Metode Oven	27
c. Analisa Aktivitas Air atau a_w	27
d. Analisa pH	27
e. Analisa Kadar Garam	28
f. Evaluasi Organoleptik	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
A. PENELITIAN PENDAHULUAN	29
1. Analisa Komposisi Kimia dan Populasi Mikroba pada Biji Kacang Tanah Panggang dan Rebus	29
2. Penentuan Konsentrasi BAL untuk Perendaman Kacang Tanah Mentah Polong	31
B. PENELITIAN UTAMA	31
1. Pengaruh Suspensi Sel BAL terhadap Populasi <i>A. flavus</i> dalam Kacang Tanah Mentah Polong	31
2. Pengaruh Supernatan Bebas Sel BAL terhadap Populasi <i>A. flavus</i> dalam Kacang Tanah Mentah Polong	35
3. Reduksi Kandungan Aflatoksin oleh BAL	37



4. Evaluasi Organoleptik	38
a. Warna	38
b. Penampakan	39
c. Rasa	41
V. KESIMPULAN DAN SARAN	43
A. KESIMPULAN	43
1. Penelitian Pendahuluan	43
2. Penelitian Utama	43
B. SARAN	44
DAFTAR PUSTAKA	45



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Daerah produksi kacang tanah utama di Indonesia (tahun 1996-2000)	4
--	---





DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan produk kacang tanah panggang	6
Gambar 2. Diagram alir proses pembuatan produk kacang tanah rebus	7
Gambar 3. (a). Koloni <i>A. flavus</i> pada media <i>Czapek Yeast Extract Agar</i> setelah 7 hari inkubasi pada suhu ruang	12
(b). Foto mikrograf <i>A. flavus</i> (200X)	12
Gambar 4. Struktur kimia aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ dan G ₂	14
Gambar 5. Diagram alir proses penentuan potensi antiaflatoxigenik BAL	20
Gambar 6. Pengaruh aplikasi BAL antimikotik pada proses pengolahan kacang tanah terhadap sifat organoleptik	21
Gambar 7. Penotolan sampel dan standar aflatoksin pada lempeng kromatografi	25
Gambar 8. (a). Hasil elusi I setelah diamati di bawah lampu UV menghasilkan penampakan bercak standar aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ dan G ₂ secara berurutan dari atas ke bawah	25
(b). Hasil elusi II setelah penotolan standar yang kedua dan lempeng Kromatografi diputar 90° ke arah kanan dari posisi penotolan pertama	25
Gambar 9. Deteksi aflatoksin secara kualitatif	26
Gambar 10. Bercak standar aflatoksin	26
Gambar 11. (a). Koloni <i>A. flavus</i> yang diisolasi dari kacang tanah panggang bentuk polong pada media <i>Potato Dextrose Agar</i> setelah 7 hari inkubasi pada suhu ruang	30
(b). Foto mikrograf <i>A. flavus</i> (100X)	30
Gambar 12. Populasi <i>A. flavus</i> pada kacang tanah mentah polong selama perendaman di dalam suspensi sel BAL	32
Gambar 13. Populasi BAL pada kacang tanah mentah polong selama perendaman di dalam suspensi sel BAL	33
Gambar 14. Pengaruh lama perendaman kacang tanah mentah polong dengan dan tanpa BAL terhadap pH	34



Gambar 15.	Populasi <i>A. flavus</i> pada kacang tanah mentah polong selama perendaman di dalam supernatan bebas sel BAL	35
Gambar 16.	Perubahan pH kacang tanah mentah polong selama perendaman di dalam supernatan bebas sel BAL	36
Gambar 17.	Skor penilaian uji perbandingan pasangan terhadap warna kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL	38
Gambar 18.	Skor penilaian uji perbandingan pasangan terhadap warna kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL	39
Gambar 19.	Skor penilaian uji perbandingan pasangan terhadap penampakan kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL	40
Gambar 20.	Skor penilaian uji perbandingan pasangan terhadap penampakan kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL	40
Gambar 21	(a). Penampakan kacang tanah rebus dengan dan tanpa BAL	41
	(b). Penampakan kacang tanah panggang dengan dan tanpa BAL	41

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

I. PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Kacang tanah termasuk tanaman tahunan yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Indonesia memiliki iklim tropis basah yang sesuai bagi pertumbuhan berbagai jenis kapang pada komoditas pertanian termasuk *Aspergillus flavus* yang memproduksi aflatoksin.

Aflatoksin bersifat toksigenik, mutagenik, karsinogenik dan teratogenik (Gourama dan Bullerman, 1995). Menurut Pitt dan Hocking (1996) 22% dari sampel kacang tanah yang diperoleh dari petani, pedagang pengumpul dan pedagang eceran di beberapa kota di Indonesia mengandung aflatoksin lebih dari 1000 ppb.

Proses pengolahan makanan secara tradisional belum dapat menghilangkan semua cemaran aflatoksin sampai batas aman. Oleh karena itu diupayakan suatu teknologi proses produksi makanan yang dapat meningkatkan mutu dan keamanannya dan salah satunya adalah penggunaan bakteri asam laktat.

Menurut Riyanto (2002) bakteri asam laktat diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri perusak dan patogen dengan memproduksi senyawa antimikroba seperti asam, bakteriosin, CO₂, diasetil dan H₂O₂. Berbagai isolat BAL yang diperoleh dari makanan tradisional seperti sauerkraut, pickel, kecap ikan, dadih dan tempoyak telah diteliti mampu menghambat patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Echerichia coli*, *Aspergillus flavus*, *Penicilium citrinum* dan *Fusarium graminearum*. Menurut Rahmadi (2001) konsentrasi *Lactobacillus brevis* isolat dari dadih untuk menghambat *S. aureus* sebanyak 1 sampai 2 satuan log pada buah apel adalah 10⁷ CFU/ml dengan waktu perendaman 30 menit.

Isolat bakteri asam laktat dari pickel dapat menghambat pertumbuhan *Alcaligenes* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* (Lie, 1995), begitu juga isolat bakteri asam laktat dari kecap ikan (Idawati, 1996) dan isolat bakteri asam laktat dari sauerkraut (Solihati, 1995). Jenie *et al* (1995) telah mengisolasi

L. plantarum sa28k dari sauerkraut, suatu produk hasil fermentasi kubis. Senyawa antibakteri yang diproduksi antara lain adalah hidrogen peroksida dan asam laktat (Solihati, 1995).

Hidayat (2001) melaporkan bahwa *L. plantarum* sa28k dapat menghambat pertumbuhan *A. flavus* dan *Rhizopus oligosporus* dalam media *Loblemco Tryptone Broth* (LTB). Penghambatan pertumbuhan kapang dapat diamati dengan menurunnya viabilitas spora *A. flavus* ketika dikontakkan dengan *L. plantarum* sa28k dengan waktu kontak 24 jam (1 log CFU/ml) dan terus menurun sampai waktu kontak 48 jam sebesar 3 log CFU/ml.

Menurut Pramasari (2001) *L. plantarum* pi 28a berpotensi menghambat pertumbuhan *F. graminearum* dengan menggunakan kultur BAL berumur 24 jam sedangkan *R. oligosporus* kurang dihambat. Handayani (2001) melaporkan bahwa *L. plantarum* kik memiliki aktivitas antimikotik terhadap *P. citrinum* tetapi tidak menghambat pertumbuhan *R. oligosporus*. Aktivitas antimikotik BAL efektif apabila penambahannya dilakukan sebelum kapang ditumbuhkan di dalam media kontak (LTB).

Kultur tunggal BAL isolat dadih dan tempoyak dapat menurunkan pertumbuhan *A. flavus* dan *P. citrinum*. *Lactobacillus coryneformis* isolat tempoyak mempunyai potensi lebih baik dalam menurunkan pertumbuhan *A. flavus*, sedangkan *L. plantarum* isolat dadih lebih efektif terhadap *P. citrinum* (Ismail, 2002). Pertumbuhan sel BAL mempengaruhi aktivitas antimikotik BAL. Riyanto (2002) melaporkan bahwa pada media agar-agar, supernatan bebas sel BAL menghasilkan daya hambat terhadap *F. graminearum* yang lebih rendah daripada suspensi, bahkan beberapa BAL (*L. plantarum* kik, *L. plantarum* sa28k dan *Lc. Lactis* subsp. *cremoris*) kehilangan daya hambat setelah sel BAL dipisahkan.

Potensi antimikotik *Lactobacillus plantarum* sa28k telah dipelajari dari penelitian-penelitian sebelumnya menggunakan media sintetik, sedangkan aplikasinya pada sistem pangan belum diuji. Pada penelitian ini diharapkan BAL dari isolat lokal khususnya *L. plantarum* sa28k dapat menghambat pertumbuhan *A. flavus* serta mampu mereduksi aflatoksin yang terdapat pada kacang tanah yang akan diolah menjadi kacang panggang dan kacang rebus.



B. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui potensi antimikotik dari *L. plantarum* sa28k dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus* dan mereduksi kandungan aflatoksin pada kacang tanah sebelum diolah melalui pemanasan (pemanggangan dan perebusan).
2. Mengetahui pengaruh perendaman kacang tanah dalam BAL terhadap rasa, warna dan penampakan kacang tanah yang selanjutnya diolah menjadi kacang panggang dan kacang rebus.

Selain itu telah dilakukan penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui komposisi kimia dan cemaran mikroba yang terdapat pada kacang tanah panggang dan rebus yang masing-masing diperoleh dari toko swalayan dan pasar tradisional.



II. TINJAUAN PUSTAKA

A. KACANG TANAH

Di setiap daerah, kacang tanah tidak memiliki nama asli, sehingga namanya lebih menunjukkan deskripsi tanamannya. Di Indonesia nama umum tanaman ini antara lain adalah kacang tanah (kacang yang berada di dalam tanah), kacang Cina (kacang yang berasal dari Cina), kacang brudul (Jawa : kacang yang cara penennya dicabut dan polongnya menggantung) dan kacang brol (Jawa : kacang yang cara panennya dicabut dan polong berada di dalam tanah) (Sumarno, 1993).

Di Indonesia daerah produksi kacang tanah terluas adalah pulau Jawa. Daerah produksi kacang tanah utama di Indonesia dan produksinya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Daerah produksi kacang tanah utama di Indonesia (tahun 1996-2000)*

Pulau	Produksi (ton)				
	1996	1997	1998	1999	2000
Sumatera	113.383	99.016	83.717	77.137	66.627
Jawa	450.397	440.529	446.063	444.156	493.688
Bali, Nusa Tenggara dan Timor Timur	55.679	57.784	58.821	51.954	57.394
Kalimantan	27.164	25.690	27.204	24.624	23.394
Sulawesi	84.938	59.130	70.674	54.871	67.439
Maluku & Irian Jaya	6.254	6.196	5.878	6.844	9.507

*Biro Pusat Statistik (2000)

Menurut Considine dan Considine (1982), polong kacang tanah tumbuh di dalam tanah. Saat petal jatuh dari tanaman, tangkai bunga akan melengkung ke bawah dan masuk ke dalam tanah. Dilihat dari segi pertumbuhannya, terdapat dua tipe kacang tanah yaitu tipe tegak yang lurus ke atas atau agak miring sedikit

dan tipe menjalar yang cabangnya tumbuh ke samping, hanya bagian ujungnya yang mengarah ke atas.

Kandungan protein pada kacang tanah adalah sebesar 18.5%, dengan demikian kacang tanah dapat merupakan sumber protein. Menurut Woodroof (1996) dari 0.1% kadar nitrogen yang terdapat pada kacang tanah 8.74% merupakan senyawa albumin, termasuk albumin, glutelin dan globulin. Menurut kelarutannya, protein globuler dapat dibagi menjadi beberapa grup yaitu albumin, globulin, glutelin, prolamin, histon dan protamin.

Menurut Pitt (1999) kacang tanah merupakan substrat yang sesuai untuk pertumbuhan kapang penghasil aflatoksin (*A. flavus* dan *A. parasiticus*). Woodroof (1996) menyatakan bahwa komposisi kimia kacang tanah bervariasi tergantung pada varietas, tipe tanah, daerah tumbuh, pemeliharaan, pematangan (umur panen), lingkungan penyimpanan, dan faktor-faktor lain.

B. PRODUK KACANG TANAH

Produk kacang tanah banyak digemari oleh masyarakat Indonesia, hal ini terbukti dengan semakin banyaknya produk kacang tanah dengan berbagai merek di pasaran. Proses pengolahan kacang tanah antara lain dengan dipanggang di dalam oven dan direbus.

1. Kacang tanah panggang

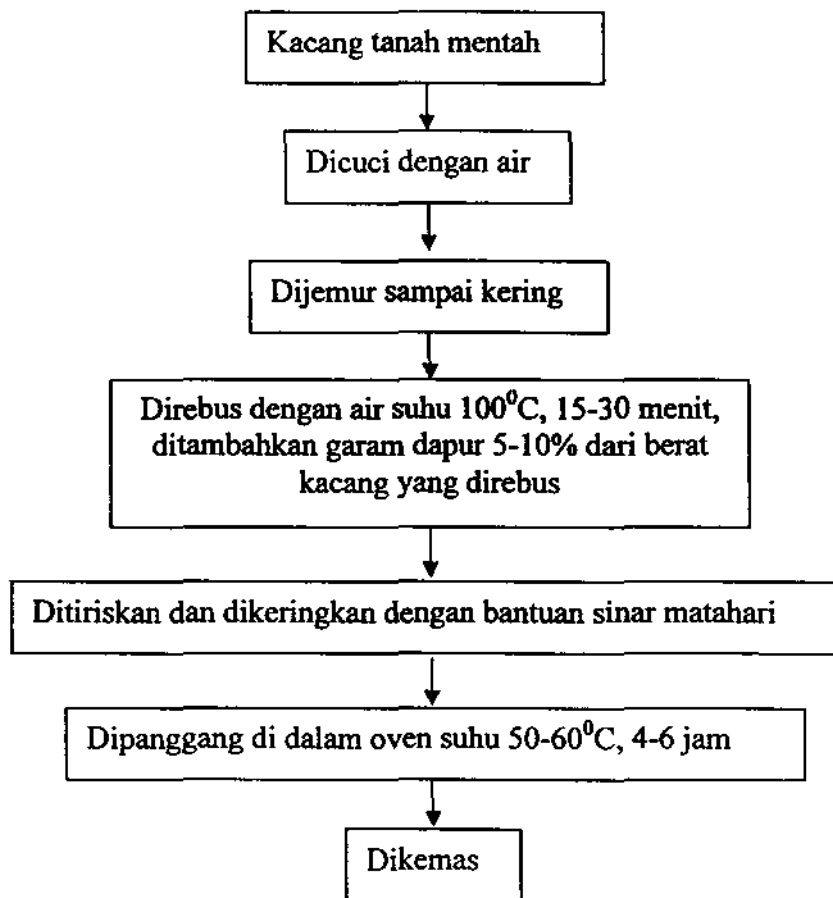
Selama pemanggangan kacang tanah terjadi dehidrasi dan reaksi pencoklatan (*browning*) pada biji kacang. Selain itu juga terjadi perubahan terhadap bau, warna serta penampakannya. Hal ini tergantung dari intensitas panas yang diberikan. Menurut Wahjudi (2000), proses pemanggangan dilakukan pada suhu 50-60⁰C selama 4-6 jam.

Pengaraman pada kulit polong kacang tanah dapat dilakukan sebelum proses pemanggangan dengan menambahkan larutan garam dapur 5-10% kemudian dikeringkan. Jenis garam yang ditambahkan sangat penting



dalam penempelannya pada kulit kacang. Bentuk partikel yang tidak beraturan lebih diinginkan untuk tujuan ini.

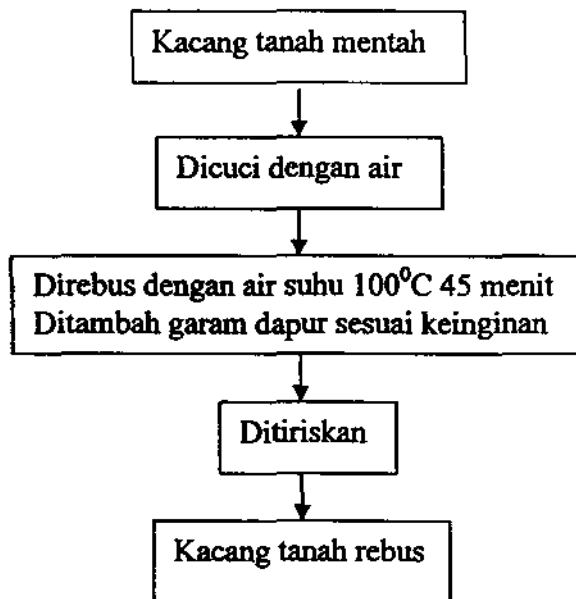
Menurut Matz (1992), untuk mempercepat penetrasi larutan garam melalui kulit dapat ditambahkan *wetting agent* seperti natrium tetrafosfat. Pada umumnya kondisi vakum dengan tekanan diberikan untuk meningkatkan penetrasi larutan garam mencapai bagian dalam kulit. Proses pengolahan kacang tanah yang dipanggang di dalam oven dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan produk kacang tanah panggang (Wahjudi, 2000).

2. Kacang tanah rebus

Kacang tanah rebus atau lebih dikenal dengan sebutan kacang rebus sangat digemari oleh konsumen sebagai makanan ringan karena proses pengolahannya sangat mudah, sederhana, tidak memakan waktu lama, rasanya gurih dan harganya murah. Pada umumnya bahan yang ditambahkan hanya garam dapur dengan jumlah seperti yang diinginkan. Dari hasil wawancara dengan beberapa pedagang kacang tanah rebus, proses pembuatan kacang rebus dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram alir proses pembuatan produk kacang tanah rebus.

C. BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)

1. Sifat Pertumbuhan

Organisme penghasil asam laktat pertama kali diisolasi dari sauerkraut. (Fardiaz dan Hadi, 1990) menyatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk golongan osmotoleran moderat dan mempunyai aktivitas air minimal 0.95 untuk pertumbuhannya. Namun beberapa bakteri asam laktat



yang terdapat dalam susu dan sauerkraut masih mampu bertahan pada aktivitas air 0.93 (Troller dan Stinson, 1981).

Bakteri yang tergolong bakteri asam laktat adalah dari famili Lactobacillaceae (genus *Lactobacillus*) dan famili Streptococcaceae (genus *Leuconostoc*, *Pediococcus* serta *Streptococcus* grup D dan N). Berdasarkan produk akhir metabolisme glukosa, bakteri asam laktat terdiri dari dua kelompok. Kelompok homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari fermentasi glukosa, sedangkan kelompok heterofermentatif menghasilkan senyawa lain disamping asam laktat, seperti karbondioksida dan etanol dalam jumlah yang hampir sama (Brock, 1970).

Perbedaan produk akhir bakteri homofermentatif dan heterofermentatif di dalam metabolisme glukosa diakibatkan oleh perbedaan fisiologi dan genetika. Organisme yang melakukan fermentasi homolaktat mempunyai enzim aldolase dan heksosa isomerase, tetapi tidak fosfoketolase. Sebaliknya bakteri heterofermentatif hanya mempunyai enzim fosfoketolase dan menggunakan jalur pentosa dan heksosa monofosfat (Brock, 1970; Frazier dan Westhoff, 1978).

Berdasarkan penggolongan tersebut maka semua spesies *Pediococcus* dan *Streptococcus* adalah bakteri homofermentatif. Sebaliknya semua *Leuconostoc* spp. termasuk ke dalam kelompok heterofermentatif. *Lactobacilli* sebagian bersifat homofermentatif dan yang lainnya heterofermentatif. Genus *Lactobacillus* dibagi lagi menjadi tiga subgenus yaitu *Betabacterium*, *Streptobacterium*, dan *Thermobacterium*. *Lactobacilli* yang melakukan fermentasi heterolaktat terutama adalah *Betabacteria* (Frazier dan Westhoff, 1978).

Menurut Troller dan Stinson (1981) salah satu faktor yang mempengaruhi kemampuan bakteri asam laktat dalam menekan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain adalah keadaan aktivitas air makanan tersebut baik selama proses pengolahan atau pada produk akhir.

Bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus* dan *Pediococcus* secara umum digunakan untuk menghasilkan produk fermentasi. Banyak penelitian yang melaporkan mengenai pengendalian pertumbuhan

mikroba oleh bakteri asam laktat melalui produksi asam dan substansi anti mikroba.

2. Sifat Antimikotik dan Antiaflatoksigenik

Beberapa bakteri asam laktat mampu menghambat pertumbuhan kapang tertentu dan produksi mikotoksin. Produksi bahan-bahan intraseluler dari bakteri asam laktat selama sel bakteri lisis mungkin menghambat pertumbuhan kapang dan produksi mikotoksin. Bakteri asam laktat dapat juga memproduksi beberapa metabolit selama fase pertumbuhan (Gourama, 1991).

Menurut Karunaratne *et al.*, (1990) produksi aflatoksin dapat dihambat oleh *Lactobacillus* spp. dan pertumbuhan kapang terhambat karena kompetisi pertumbuhan dan pH rendah. Gourama (1991) melaporkan, bahwa *Lactobasilli* dari campuran silase dapat menghambat perkecambahan spora kapang, sedangkan supernatan bebas sel sedikit menghambat pertumbuhan kapang.

Pertumbuhan miselium kapang pada media LTB (*Loblemco Tryptone Broth*) yang diasamkan sampai pH 4.2 oleh asam laktat maupun asam klorida tidak dihambat (Hidayat, 2001). Riyanto (2002) melaporkan bahwa metabolit BAL lain selain asam juga berperan dalam aktivitas antimikotik BAL. Penambahan asam laktat dan HCL sampai pH 4.2 tidak mampu menghambat pertumbuhan *F. graminearum*, *P. citrinum* dan *A. flavus* pada media cair serta tidak mampu mempertahankan pH media supaya tetap rendah setelah inkubasi selama 14 hari. Penambahan BAL menunjukkan aktivitas antimikotik dan mempertahankan pH media tetap rendah setelah inkubasi 14 hari.

Menurut Handayani (2001) waktu kontak berpengaruh terhadap aktivitas antimikotik BAL. Semakin lama waktu kontak umumnya aktivitas antimikotik terhadap viabilitas spora kapang juga semakin meningkat. Pada waktu kontak selama 12 jam viabilitas spora *P. citrinum* menurun sebesar 1 log dan pada waktu kontak 48 jam menurun hingga 2 log.

D. ISOLAT BAL DARI SAUERKRAUT

Sauerkraut adalah suatu produk hasil fermentasi kubis. Kubis mengandung senyawa kimia tertentu yang belum dikenal identitas kimianya akan tetapi diketahui memegang peranan penting pada fermentasi sauerkraut, karena senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri yang tidak diinginkan terdapat pada kubis yang akan difermentasi (Solihati, 1995).

Menurut Solihati (1995) mayoritas isolat-isolat BAL yang berhasil diisolasi dari fermentasi kubis (sauerkraut) adalah *L. plantarum*. Isolat BAL ini mempunyai senyawa anti bakteri yaitu hidrogen peroksida dan asam laktat. Aktivitas antibakteri tertinggi terutama terhadap *Pseudomonas fluorescens* dan *Alcaligenes* sp.

Lactobacillus plantarum tergolong bakteri Gram positif, nonmotil, dan berbentuk batang, merupakan 1 dari 27 spesies yang termasuk genus *Lactobacillus*, famili *Lactobacillaceae*. Bakteri ini bersifat katalase negatif, tidak berspora (asporogenus), dapat mengfermentasi amigdalin, selobiosa, laktosa, manitol, salisin, dan sukrosa (Robinson, 1981). Fermentasi glukosa oleh bakteri ini menghasilkan produk DL-asam laktat tanpa gas. Protein antagonik (bakteriosin) yang diproduksi adalah laktolin, plantarisin S dan T (Diaz *et al.*, 1993) serta plantarisin A dan B (Ray dan Daeschel, 1994).

Menurut Robinson (1981) *L. plantarum* dapat ditemukan pada proses pematangan keju dan dapat diisolasi dari produk-produk susu. Pada media padat *L. plantarum* membentuk koloni berwarna putih atau kuning dan beberapa galur bersifat motil.

Menurut Stamer (1980) *L. plantarum* adalah bakteri asam laktat homofermentatif yang masih tumbuh pada pH 3.0-4.6. Fardiaz (1989) menyatakan bakteri asam laktat homofermentatif mempunyai kisaran suhu optimum pertumbuhan 37°C atau lebih. Robinson (1981) menambahkan bahwa *L. plantarum* pada umumnya tidak dapat tumbuh pada 45°C dan membutuhkan beberapa vitamin untuk pertumbuhannya.

Pembentukan asam yang cepat dalam jumlah tinggi oleh aktivitas starter *L. plantarum* baik dalam bentuk tunggal maupun campuran dengan bakteri asam laktat lain diketahui dapat menyebabkan bakteri perusak dan bakteri patogen pada produk fermentasi sayuran terhambat pertumbuhannya atau bahkan tidak dapat bertahan hidup. *L. plantarum* merupakan penghasil hidrogen peroksida tertinggi diantara kultur bakteri asam laktat lainnya pada medium 1% pepton. Konsentrasi hidrogen tersebut lebih tinggi daripada konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri perusak atau patogen (Fardiaz, 1989).

Hidayat (2001) melaporkan bahwa *L. plantarum* sa28k dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan *Rhizopus oligosporus*, sedangkan Handayani (2001) melaporkan bahwa *L. plantarum* kik memiliki aktivitas antimikotik yang baik terhadap *P. citrinum* tapi tidak menghambat *R. oligosporus*. Penelitian lain menunjukkan potensi penghambatan pertumbuhan *Fusarium graminearum* oleh *L. plantarum* pi28a tapi kurang menghambat *R. oligosporus* (Pramasari, 2001).

E. KAPANG *Aspergillus flavus*

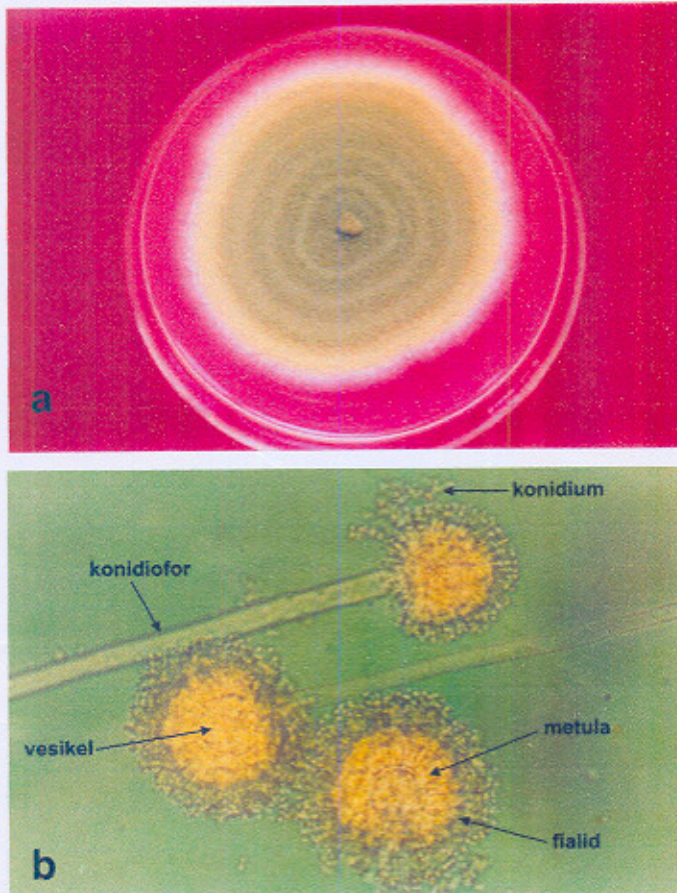
Aspergillus flavus terdapat dimana-mana (kosmopolit) baik di udara, air, tanah dan tumbuh pada bahan pangan maupun pakan seperti jagung, beras, dan kacang tanah (Moreau dan Moss, 1979). Menurut Gourama dan Bullerman (1995) faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *A. flavus* serta produksi aflatoksin terutama pada bahan pangan yaitu jenis substrat, kadar air, kelembaban relatif, temperatur, pH serta mikroba kompetitor.

Aspergillus flavus tumbuh pada kelembaban relatif 82-85% dan suhu 30-32°C, sedangkan kondisi optimum untuk menghasilkan aflatoksin adalah pada kelembaban relatif 85% dan suhu 25-30°C. Pertumbuhan optimum *A. flavus* yaitu pada kadar air 15-30% (ICAR, 1987). Menurut Pitt dan Hocking (1997) pH minimal untuk pertumbuhan *A. flavus* adalah 3.4 dan aktifitas air (a_w) yaitu 0.78-0.84.



Kapang ini terdiri dari talus yang tersusun dari filamen yang bercabang disebut hifa. Kumpulan hifa disebut miselium. Hifa berasal dari spora yang berkecambah membentuk tabung kecambah yang selanjutnya berkembang menjadi miselium (Pitt dan Hocking, 1997). Medium selektif *Aspergillus flavus* dan Parasiticus Agar (AFPA) digunakan untuk deteksi dan penghitungan kapang (*A. flavus*, *A. parasiticus* dan *A. nomius*) yang berpotensi menghasilkan aflatoksin pada kacang-kacangan, jagung dan komoditas lainnya. Pada media AFPA koloni ketiga spesies tersebut dapat dikenali warnanya yaitu oranye-kuning terang di balik cawan Petri apabila diinkubasikan pada suhu 30 °C selama 42 – 48 jam. Koloni *A. flavus* pada media *Czapek Yeast Extract Agar* setelah 7 hari inkubasi dan foto mikrograf dapat dilihat pada Gambar 3.

@Hak cipta milik IPB University



Gambar 3. (a). Koloni *A. flavus* pada media *Czapek Yeast Extract Agar* setelah 7 hari inkubasi pada suhu ruang.
(b). Foto mikrograf *A. flavus* (200X). (Foto dibuat oleh : Okky S. Dharmaputra, 2002).

F. AFLATOKSIN

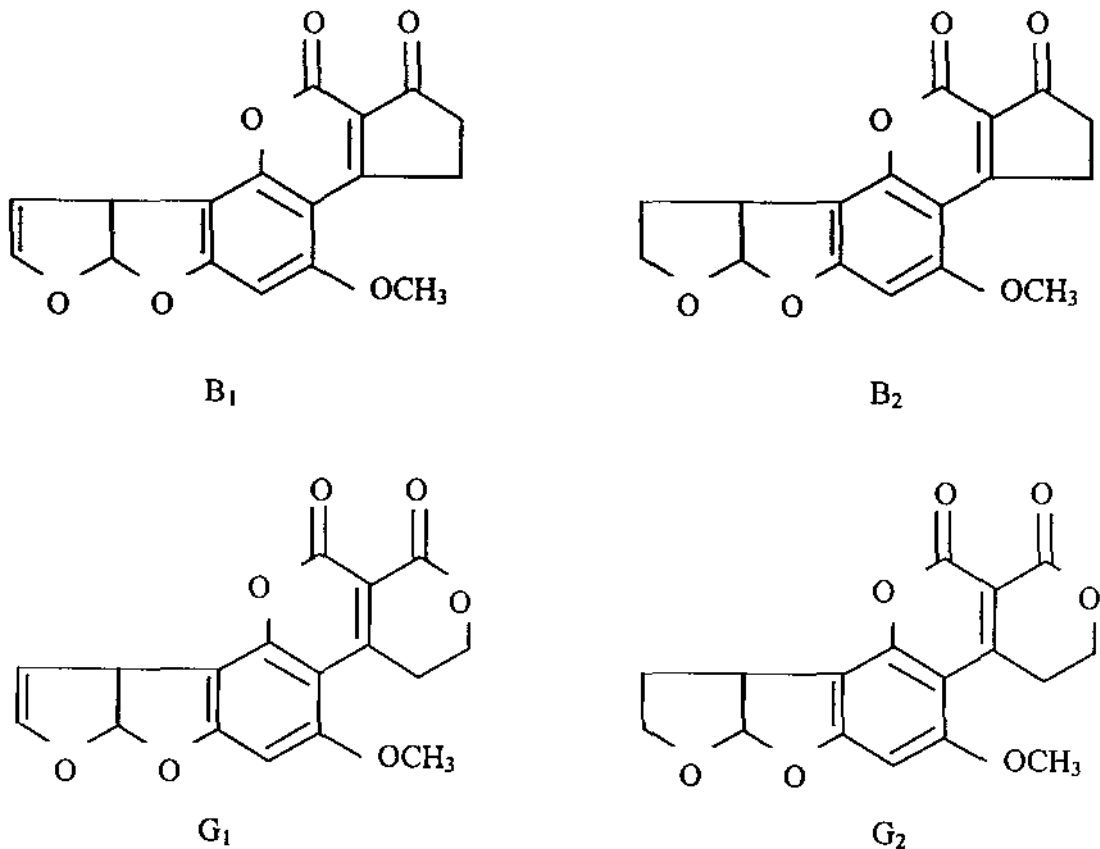
Aflatoksin merupakan toksin yang dihasilkan oleh *A. flavus*, *A. parasiticus* dan *A. nomius* (Pitt dan Hocking, 1997). Suhu optimum bagi *A. flavus* dan *A. parasiticus* untuk menghasilkan aflatoksin adalah antara 25-30⁰C (Heathcote, 1984). Kedua spesies tersebut tidak akan menghasilkan aflatoksin apabila ditumbuhkan pada suhu 7.5⁰C atau lebih dari 40⁰C. Aflatoksin akan dihasilkan setelah inkubasi selama 2 hari dan produksinya maksimum setelah 7 hari inkubasi.

Laju penggunaan nutrisi yang maksimum terjadi pada fase pertumbuhan logaritma. Metabolit sekunder (antara lain aflatoksin) jarang dihasilkan pada fase ini. Pada waktu ketersediaan nutrisi telah menipis, laju pertumbuhan kapang menjadi lambat dan dimulai fase pertumbuhan lambat. Pada fase ini pembelahan sel terhambat tetapi berat kering kapang masih meningkat sehubungan dengan akumulasi produk metabolit seperti lipida dan polisakarida, serta mulai terjadi sintesis metabolit sekunder. Fase berikutnya adalah fase pertumbuhan stasioner, yaitu fase menuju kematian. Berat kering sel menjadi konstan serta produksi metabolit sekunder menurun dan terjadi autolisis sel (Garraway dan Evans, 1984). Berdasarkan uraian tersebut di atas, diasumsikan bahwa aflatoksin dihasilkan pada fase pertumbuhan lambat hingga fase menuju kematian.

Aflatoksin bersifat sangat stabil, dengan beberapa cara perlakuan tidak sepenuhnya mengurangi toksisitasnya. Cara paling baik untuk mencegah kontaminasi aflatoksin dalam bahan pangan yaitu dengan menghambat atau mencegah pertumbuhan kapang penghasil aflatoksin dalam bahan bersangkutan. Menurut Hidayat (2001) *L. plantarum* sa28k mampu menghambat *A. flavus* penghasil aflatoksin bila ditumbuhkan terlebih dahulu pada media LTB.

Menurut Gourama dan Bullerman (1995) *Lactobacillus* spp. mampu menghambat pertumbuhan dan produksi aflatoksin oleh *A. flavus* subsp *parasiticus*. Aviarta (1994) melaporkan bahwa waktu perebusan bungkil kacang selama 30 menit mengakibatkan penurunan aflatoksin rata-rata lebih besar dibandingkan lamanya perebusan 15 dan 45 menit.

Menurut Betina (1989) aflatoksin diproduksi oleh kapang melalui jalur biosintesis poliketida dari asetat. Pemberian nama aflatoksin sesuai dengan fluoresensinya pada lempeng kromatografi dengan silika gel yang disinari dengan ultraviolet pada panjang gelombang 365 nm. Jika fluoresensinya biru maka diberi kode B dari kata *blue*, dan jika fluoresensinya hijau diberi kode G dari kata *green*. Aflatoksin B₁, B₂, G₁, dan G₂ merupakan jenis aflatoksin yang paling sering ditemukan. Diener dan Davis (1969) menyatakan bahwa jenis aflatoksin yang paling berbahaya adalah B₁. Urutan toksisitas dari ke-4 jenis aflatoksin adalah B₁>B₂>G₁>G₂. Struktur kimia aflatoksin B₁, B₂, G₁ dan G₂ dapat dilihat pada Gambar 4. Heathcote (1984) menyatakan bahwa titik leleh aflatoksin B₁, B₂, G₁ dan G₂ masing-masing yaitu 267, 303-306, 257-259 dan 237-240⁰C.



Gambar 4. Struktur kimia aflatoksin B₁, B₂, G₁, dan G₂ (Heathcote, 1984).

Kandungan aflatoksin 1000 ppb dapat menyebabkan kerusakan hati akut baik pada manusia maupun hewan (Pitt dan Hocking, 1996). Berdasarkan

Standar Codex Alimentarius kerjasama FAO/WHO yang diselenggarakan di Roma, Itali pada tanggal 28 Juni-3 Juli 1999 batas maksimum kandungan aflatoksin total pada kacang tanah yaitu 15 ppb. Jay (2000) melaporkan batas maksimum kandungan aflatoksin yang ditetapkan oleh U.S. Food and Drug Administration (FDA) pada kacang tanah dan makanan berbasis kacang tanah yaitu sebesar 20 ppb, sedangkan pada susu yaitu 0.5 ppb.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. BAHAN DAN ALAT

Pada penelitian pendahuluan, bahan baku yang digunakan adalah kacang tanah panggang (diperoleh dari toko swalayan) dan kacang tanah rebus (diperoleh dari pasar tradisional), sedangkan penelitian utama menggunakan kacang tanah mentah (diperoleh dari pasar tradisional).

Kultur bakteri asam laktat yang digunakan adalah *L. plantarum* sa28k koleksi Laboratorium Mikrobiologi PAU Pangan dan Gizi IPB. Kapang yang digunakan adalah *A. flavus* BIO 2131 yang bersifat toksigenik koleksi Laboratorium Fitopatologi SEAMEO BIOTROP Bogor.

Media untuk penghitungan populasi kapang pada kacang panggang yaitu *Dichloran 18% Glycerol Agar* (DG18), untuk penghitungan populasi khamir pada kacang rebus dan isolasi *A. flavus* dari kacang tanah panggang digunakan *Potato Dextrose Agar* (PDA), sedangkan untuk penghitungan populasi bakteri yaitu campuran *Bacto Agar* dan *deMan Rogosa Sharpe Broth* (MRSB). Komposisi tiap media disajikan pada Lampiran 12.

Bahan kimia yang digunakan adalah gliserol steril 10%, alkohol, akuades, NaCl 0.85%, buffer pH 7, buffer pH 4, AgNO₃ 0.1 N, K₂CrO₄ 5%, metanol, heksana jenuh, kloroform, aseton, etil asetat, asam format dan natrium sulfat anhidrat.

Alat yang digunakan adalah cawan Petri, oven, pH meter, a_w meter, autoklaf, mikroskop, vorteks, kulkas, inkubator, cawan aluminium, desikator, buret, labu Erlenmeyer, bejana kromatografi, labu kocok, corong pemisah, kertas saring, rotavapor, pengaduk magnet dan lempeng Kromatografi Lapis Tipis.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi a) analisis komposisi kimia dan populasi mikroba dari biji kacang tanah panggang dan rebus yang masing-masing berasal dari toko swalayan dan pasar tradisional, b) penentuan

konsentrasi BAL dalam perendaman kacang tanah mentah. Penelitian utama meliputi a) penentuan volume cairan perendam dan waktu perendaman untuk mengetahui potensi antimikotik BAL dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus* pada kacang tanah mentah polong, b) penentuan potensi antiaflatoksigenik BAL dalam mereduksi kandungan aflatoksin, dan c) uji organoleptik kacang tanah panggang dan rebus yang diolah dengan penggunaan BAL.

1. Persiapan Sampel

Sampel untuk penelitian pendahuluan diperoleh dari toko swalayan dan pasar tradisional Bogor. Sampel kacang tanah panggang sebanyak tiga bungkus (250 g/bungkus) yang bulan kadaluwarsanya adalah masih lima bulan dari tanggal pembelian, sedangkan kacang tanah rebus sebanyak 1 kg. Masing-masing sampel tersebut dicampur secara homogen kemudian diambil secara acak untuk berbagai analisis. Sampel untuk penelitian utama yaitu kacang tanah mentah diperoleh dari pasar tradisional sebanyak 6 kg. Analisis setiap peubah dari setiap sampel dibuat dua ulangan (duplo).

2. Persiapan Kultur

a. Persiapan Suspensi Bakteri Asam Laktat (Jenie *et al.*, 2000)

Bakteri asam laktat dibiakkan dalam media *MRS Broth* selama 48 jam pada suhu 37⁰C. Pertumbuhan positif BAL ditandai dengan adanya kekeruhan pada media setelah diinkubasi. Selanjutnya sebanyak 4% (v/v) biakan diinokulasikan ke dalam media skim modifikasi (larutan 10 % susu skim) kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 48 jam. Biakan ini disebut kultur antara yang selanjutnya akan digunakan untuk membuat kultur kerja. Kultur kerja dibuat dengan menginokulasikan sebanyak 4 % (v/v) kultur antara ke dalam skim modifikasi dan diinkubasikan lagi pada suhu 37⁰C selama 48 jam. Jumlah koloni BAL dihitung dengan menggunakan metode *Plate Count* pada media *MRS Agar* dan konsentrasi sel bakteri yang digunakan untuk tahap selanjutnya adalah k₂ sel/ml.

b. Persiapan Supernatan Bebas Sel BAL

Suspensi sel BAL disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 1. Hasil penyaringan dipasteurisasi pada suhu 65⁰C selama 30 meni, dengan tujuan untuk mematikan sel-sel BAL, sehingga yang berperan pada saat perendaman kacang tanah mentah polong hanya metabolit sekundernya saja.

c. Persiapan Kapang *A. flavus* (Fardiaz, 1989)

Aspergillus flavus ditumbuhkan pada PDA miring selama 4 hari, kemudian disimpan di dalam kulkas untuk kultur stok. Untuk kultur kerja sebanyak 1 "ose" (± 0.1 ml) spora digores pada PDA miring kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari. Jumlah spora kapang dihitung dengan menggunakan hemasitometer (metode Petroff-Hausser). Konsentrasi spora kapang yang digunakan untuk tahap selanjutnya adalah 10⁴ spora/ml.

3. Penelitian Pendahuluan

a. Analisa Komposisi Kimia dan Populasi Mikroba Biji Kacang Tanah Panggang dan Rebus

Analisa komposisi kimia meliputi kadar air, a_w , pH, dan kadar garam, sedangkan penentuan populasi mikroba menggunakan metode pengenceran berderet yang dilanjutkan dengan metode cawan tuang. Media yang digunakan adalah DG18 untuk kacang tanah panggang dan PDA untuk kacang tanah rebus.

b. Penentuan Konsentrasi BAL untuk Perendaman Kacang Tanah Mentah Polong

Kacang tanah mentah polong sebanyak 50 g disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 30 menit. Sebanyak 100 ml suspensi BAL (k_1 sel/ml) dan suspensi spora (10⁴ spora/ml) diinokulasikan pada kacang tanah. Dengan menggunakan cara yang sama dibuat perendaman

dengan suspensi BAL (k_2 sel/ml). Kacang tanah direndam selama t_1 , t_3 , t_5 dan t_7 jam. Selanjutnya dilakukan penghitungan populasi *A. flavus* setelah waktu perendaman tercapai.

4. Penelitian Utama

a. Penentuan Volume dan Waktu Perendaman Kacang Tanah Mentah Polong dengan Kultur BAL

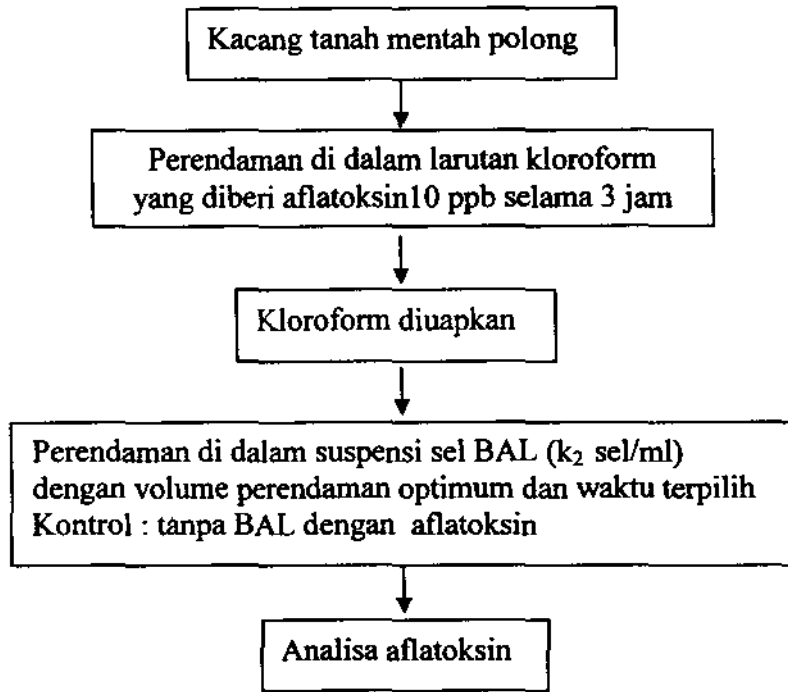
Untuk menentukan volume perendaman kacang tanah di dalam kultur BAL, sebanyak 50 g kacang tanah mentah direndam di dalam 50, 100, dan 150 ml akuades. Volume akuades optimum ditentukan berdasarkan jumlah akuades yang terserap ke dalam kacang tanah.

Penentuan waktu perendaman optimum ditentukan bersamaan dengan dilakukannya *challenge test*. Sebanyak 50 g kacang tanah mentah disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit, selanjutnya direndam di dalam suspensi BAL (k_2 sel/ml) dan spora *A. flavus* (10^4 spora/ml) dengan volume perendaman sesuai yang telah ditentukan sebelumnya. Waktu perendaman yaitu t_1 , t_3 , t_5 dan t_7 jam. Sebagai kontrol, kacang tanah hanya direndam di dalam suspensi spora *A. flavus*. Sampel yang akan dianalisa diukur pH nya terlebih dahulu. Waktu perendaman optimum ditentukan berdasarkan penurunan populasi *A. flavus* optimum oleh BAL.

b. Penentuan Potensi Antiaflatoksigenik BAL

Diagram alir untuk mengetahui potensi antiaflatoksigenik BAL dapat dilihat pada Gambar 5. Sebanyak 20 g kacang tanah mentah direndam di dalam 40 ml larutan kloroform yang ditambahkan 1 ml aflatoxin B₁ (10 ppm) selama 3 jam, kemudian kloroform yang digunakan untuk perendaman diuapkan. Setelah itu kacang tanah direndam di dalam suspensi BAL (k_2 sel/ml) sebanyak 40 ml dengan waktu perendaman terpilih. Sebagai kontrol digunakan kacang tanah yang hanya direndam dalam larutan aflatoxin. Selanjutnya dilakukan analisa

kandungan aflatoksin pada kacang tanah dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (AOAC, 1995).

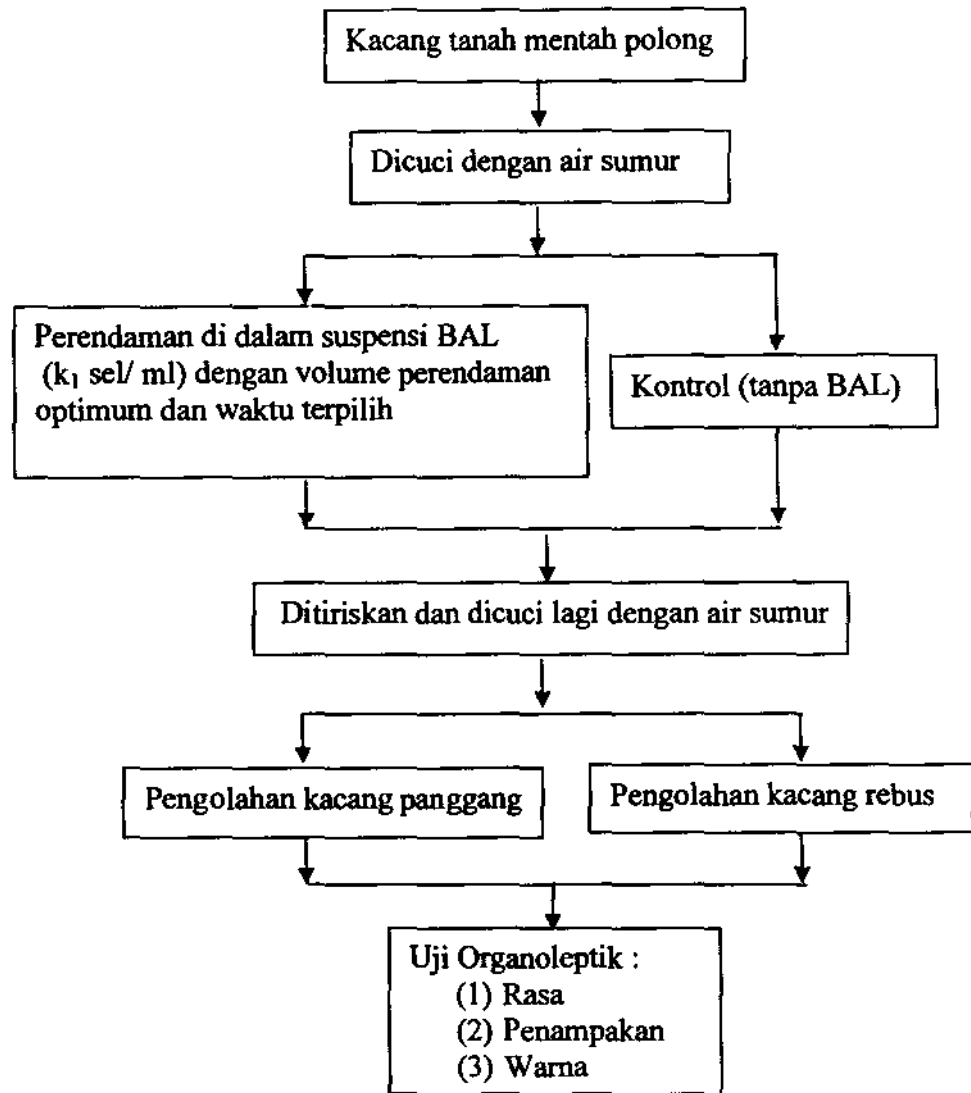


Gambar 5. Diagram alir proses penentuan potensi antiaflatoksigenik BAL.

c. Aplikasi BAL pada Proses Pengolahan Kacang Tanah Panggang dan Rebus

Untuk evaluasi organoleptik, pada kacang tanah mentah yang akan diolah tidak ditambah dengan aflatoxin, melainkan hanya direndam di dalam suspensi BAL (k_1 sel/ml) . Sebagai kontrol digunakan kacang tanah mentah yang hanya direndam dengan akuades. Setelah ditiriskan, kacang tanah mentah diolah dengan cara dipanggang dan direbus. Parameter uji organoleptik yang dilakukan adalah warna, penampakan dan rasa. Diagram alir aplikasi BAL pada pengolahan kacang tanah dapat dilihat pada Gambar 6.





Gambar 6. Pengaruh aplikasi BAL antimikotik pada proses pengolahan kacang tanah terhadap sifat organoleptik.

C. ANALISA

1. Analisa Mikroba

- a. Penentuan Populasi Kapang pada Biji Kacang Tanah Panggang dan Populasi Khamir pada Biji Kacang Tanah Rebus (Fardiaz, 1989)

Sebanyak 10 g sampel (biji kacang tanah panggang atau kacang tanah rebus) dimasukkan ke dalam kantung plastik *stomacher* steril, kemudian ditambah akuades steril sebanyak 90 ml selanjutnya biji kacang

tanah panggang atau kacang tanah rebus digiling di dalam *stomacher* selama 60 detik. Suspensi dibuat homogen selama 2 menit.

Populasi kapang dan khamir ditentukan berdasarkan metode pengenceran suspensi sampel dalam akuades steril. Pengenceran dilakukan secara berderet (*serial dilution*) yaitu 1:10 sampai dengan 1:10.000. Sebanyak 1 ml suspensi sampel dari setiap faktor pengenceran diambil dengan pipet, kemudian diletakkan di dalam sebuah cawan Petri steril (diameter 9 cm) dan dituangi media *Dichloran 18% Glycerol Agar* untuk sampel biji kacang tanah panggang dan *Potato Dextrose Agar* ($\pm 40^\circ \text{C}$) yang sebelumnya ditambah asam tartarat 10% (16 ml/l) untuk sampel biji kacang tanah rebus. Untuk setiap faktor pengenceran dibuat dua ulangan (duplo). Selanjutnya cawan Petri diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari. Perhitungan jumlah koloni kapang dan khamir dilakukan terhadap pengenceran yang menghasilkan koloni secara terpisah. Populasi ditentukan dengan rumus berikut :

$$\text{Populasi kapang atau khamir (koloni/g biji kacang tanah)} = \frac{\text{rata-rata } \sum \text{koloni pada 2 cawa Petri}}{\text{x 1/faktor pengenceran}}$$

Identifikasi kapang yang diperkirakan *A. flavus* dilakukan dengan cara sebagai berikut :

Jarum “ose” disterilkan dengan memanaskan di atas api, kemudian dicelupkan bagian ujungnya ke dalam media PDA yang sudah dingin. Dengan menggunakan jarum “ose” tersebut diambil sedikit spora dari koloni kapang yang terpisah dengan baik dan selanjutnya ditempatkan di tengah media PDA di dalam cawan Petri dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Pengamatan secara mikroskopik dilakukan dengan perbesaran 100X.

b. Penentuan Populasi BAL pada Kacang Tanah Mentah Polong (Fardiaz, 1989)

Populasi BAL ditentukan berdasarkan metode pengenceran suspensi sampel dalam larutan 0.85% NaCl. Pengenceran dilakukan secara berderet yaitu 1:10¹ sampai dengan 1:10⁸. Sebanyak 1 ml suspensi

sampel dari setiap faktor pengenceran diambil dengan pipet, kemudian diletakkan pada sebuah cawan Petri steril (diameter 9 cm) dan ditambahkan *MRS Agar* (40°C). Untuk setiap faktor pengenceran dibuat dua ulangan (duplo). Selanjutnya cawan Petri diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam. Populasi BAL ditentukan dengan rumus berikut :

$$\text{Populasi BAL sel/g kacang tanah} = \frac{\text{rata-rata } \sum \text{ sel BAL pada 2 cawan Petri}}{\text{x 1/faktor pengenceran}}$$

c. Penghitungan Spora Kapang dengan Metode Petroff-Hausser (Fardiaz, 1989)

Perhitungan spora *A. flavus* dilakukan dengan bantuan hemositometer yang mempunyai kotak-kotak skala, dimana didalam setiap ukuran skala seluas 1 mm² terdapat 25 buah kotak besar dengan luas 0.04 mm² dan setiap kotak besar terdiri dari 16 kotak kecil. Tinggi suspensi sampel yang terletak diantara kaca obyek dan kaca penutup adalah 0.02 mm. Jumlah spora dalam beberapa kotak besar dihitung, kemudian dihitung jumlah spora rata-rata dalam 1 kotak besar. Jumlah spora per ml sampel dapat dihitung sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Jumlah spora per ml sampel} &= \text{Jumlah sel per kotak besar} \times 25 \times \text{kotak} \times 1/0.02 \times 10^3 \\ &\quad \underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Jumlah sel/mm}^2} \\ &\quad \underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Jumlah sel/mm}^3} \\ &\quad \underbrace{\hspace{10em}}_{\text{Jumlah sel/cm}^3 \text{ (ml)}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah spora per ml sampel} &= \text{jumlah spora per kotak besar} \times 25 \times 50 \times 10^3 \\ &= \text{jumlah spora per kotak besar} \times 1,25 \times 10^6 \end{aligned}$$

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

2. Analisa Proksimat

a. Analisa Kandungan Aflatoksin dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (AOAC,1995)

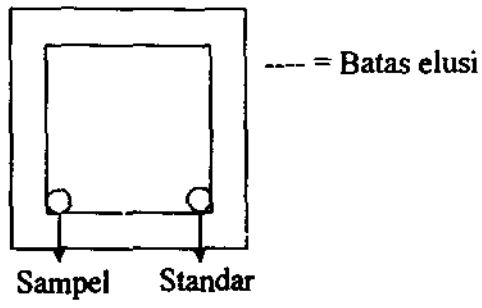
Sampel terlebih dahulu digiling menggunakan blender sampai diperoleh partikel sebesar 50 mesh, kemudian diekstraksi. Pada 20 g sampel yang telah digiling ditambahkan 25 ml n-heksan, 50 ml metanol dan 0.5 g NaCl. Sampel diaduk dengan menggunakan pengaduk magnet dengan kecepatan No. 8 pada alat *thermolyne* selama 15 menit, setelah itu disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1.

Hasil penyaringan, dipipet sebanyak 25 ml pada bagian fase metanol ke dalam 250 ml labu pemisah dan ditambahkan kedalamnya 15 ml akuades dan diekstrak menggunakan 2 x 25 ml CHCl_3 , kemudian labu pemisah ditutup dengan rapat dan dikocok selama 30 – 60 detik. Lapisan dibiarkan memisah.

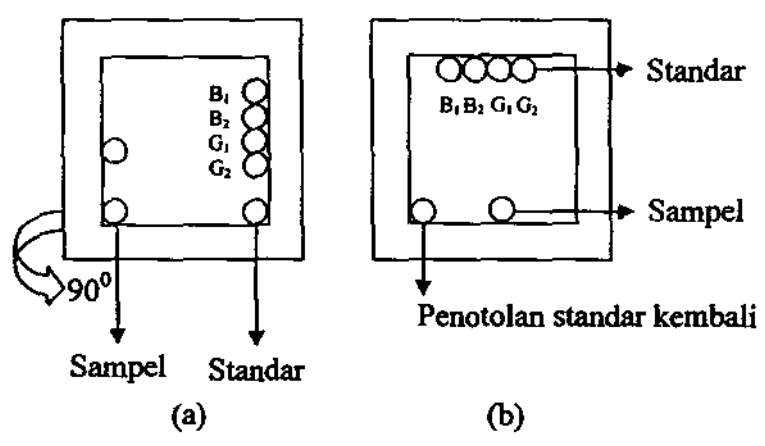
Lapisan bagian bawah (CHCl_3) diambil dan dipindahkan ke dalam 600 ml gelas piala. Fraksi CHCl_3 dilalukan ke dalam kolom berisi Na_2SO_4 anhidrat. Larutan dipindahkan ke dalam tabung vial 10 ml, kemudian dievaporasi sampai volume larutan menjadi ± 2 ml. Gas N_2 dihembuskan ke dalam tabung vial sampai ekstrak mengering.

Sebelum diidentifikasi, sampel hasil ekstraksi dilarutkan kembali menggunakan kloroform secara kuantitatif. Tahap identifikasi dilakukan dengan cara menotolkan cairan sampel dan larutan standar sebanyak 10 μl dengan menggunakan *micro-syringe* pada lempeng kromatografi (Gambar 7).

Lempeng kromatografi dielusi di dalam bejana yang berisi pelarut I (kloroform : aseton = 9 : 1), kemudian dikeringkan dengan pengering rambut (*hair dryer*). Setelah itu standar ditotolkan kembali pada tempat yang berbeda dengan cara memutar lempeng kromatografi 90° ke arah kanan dari posisi penotolan pertama (Gambar 8) dan dielusi dengan pelarut II (etilasetat : toluena : asam format = 5 : 4 : 1).



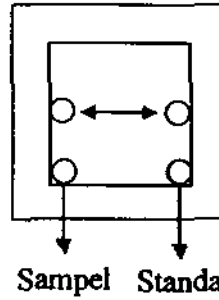
Gambar 7. Penotolan sampel dan standar aflatoksin pada lempeng kromatografi.



Gambar 8. (a) Hasil elusi I setelah diamati dibawah lampu UV menghasilkan penampakan bercak standar aflatoksin B₁, B₂, G₁ dan G₂ secara berurutan dari atas ke bawah.
(b) Hasil elusi II setelah penotolan standar yang kedua dan lempeng kromatografi diputar 90° ke arah kanan dari posisi penotolan pertama.

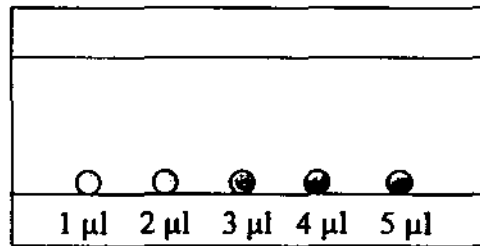
Hasil elusi dikeringkan dan diamati di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 365 nm. Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan *Rate of flow* (Rf) dari fluoresensi bercak sampel dan standar (Gambar 9). Aflatoksin dikatakan positif jika Rf sampel sama dengan Rf standar.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 9. Deteksi aflatoksin secara kualitatif.

Analisis kuantitatif dilakukan dengan membandingkan intensitas fluoresensinya dengan standar. Hal tersebut diperoleh dari deret standar aflatoksin yang dielusi dengan pelarut I (Gambar 10).



Gambar 10. Bercak standar aflatoksin.

Kandungan aflatoksin per ulangan (ppb) dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Kandungan aflatoksin per ulangan (ppb)} = \frac{S \times Y \times V \times fp}{Z \times W}$$

Keterangan :

S = Volume aflatoksin standar yang intensitas fluoresensinya sama dengan sampel (µl).

Y = Konsentrasi aflatoksin standar (µg/ml).

V = Volume pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel ekstrak akhir (µl).

Z = Volume sampel ekstrak yang ditotolkan pada lempeng dan memberi intensitas fluoresensi sama dengan S (µl).

W = Bobot sampel (g).

fp = Faktor pengenceran.

b. Analisa Kadar Air dengan Metode Oven (AOAC, 1984)

Cawan aluminium kosong yang bersih dikeringkan di dalam oven (100-102⁰C) selama 15 menit, kemudian didinginkan di dalam desikator selama 10 menit, selanjutnya ditimbang. Sampel yang telah digiling sebanyak 5 gram ditempatkan di dalam cawan (a), kemudian dioven (100-102⁰C) selama 6 jam atau sampai beratnya konstan. Cawan berisi sampel dikeluarkan dari oven, kemudian didinginkan di dalam desikator dan ditimbang kembali (b). Kadar air sampel dalam berat basah (bb) ditentukan berdasarkan rumus berikut :

$$\text{Kadar air (bb)} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

c. Analisa Aktivitas Air atau a_w (Shibaura, A_w meter WA-360)

Pengukuran aktivitas air dilakukan dengan menggunakan A_w meter. Alat dinyalakan hingga menunjukkan siap untuk dipakai. Sebelumnya alat dikalibrasi dengan menggunakan larutan NaCl jenuh dan suhu alat diatur sesuai dengan suhu yang diinginkan. Setelah itu sebanyak 5 g kacang tanah bentuk polong dimasukkan ke sensor A_w lalu wadah ditutup. Angka yang terbaca oleh alat menunjukkan A_w bahan yang diukur.

d. Analisa pH (Apriyantono *et al.*, 1989)

Sebelum digunakan pH meter hendaknya dinyalakan terlebih dahulu selama 15-30 menit, kemudian elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan kertas *tissue*. Selanjutnya pH meter dikalibrasi dengan mencelupkan elektroda ke dalam larutan buffer fosfat pH 7 dan 4. Elektroda dibiarkan beberapa saat sampai pembacaan stabil. Angka pH yang terbaca diatur dengan menggunakan tombol kalibrasi sampai diperoleh angka pH yang sesuai dengan pH buffer pada suhu terukur. Sampel sebanyak 5 g dimasukkan ke gelas piala dan ditambah 10 ml

akuades (1:2), lalu diaduk. Elektroda dicelup ke dalam larutan sampel selama beberapa saat, kemudian nilai pH dibaca setelah menunjukkan angka stabil.

e. Analisa Kadar Garam (Apriyantono *et al.*, 1989)

Pada 2 g kacang tanah yang telah digiling ditambah 50 ml akuades panas 100°C sehingga garam menjadi larut kemudian disaring. Ekstrak garam ditepatkan menjadi 100 ml kemudian diambil sebanyak 10 ml dan dititrasi dengan AgNO₃ 0.1N menggunakan indikator larutan K₂CrO₄ 5%. Kadar garam ditentukan berdasarkan rumus berikut :

$$\text{NaCl} = \frac{\text{ml sampel} \times N \text{ AgNO}_3 \times 0.05844 \times \text{faktor pengenceran} \times 100\%}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

f. Evaluasi organoleptik (Soekarto, 1985)

Kacang tanah panggang dan rebus yang diolah dengan perendaman BAL disajikan dalam piring. Sebagai kontrol yaitu kacang tanah yang diolah tanpa perendaman dengan BAL. Sebanyak 30 orang panelis memberikan penilaian terhadap aspek rasa, penampakan dan warna kacang panggang dan kacang rebus dengan aplikasi BAL.

Kriteria warna dan penampakan diuji dengan uji perbandingan pasangan, sedangkan untuk rasa dengan menggunakan uji skoring hedonik. Data uji hedonik rasa dianalisa dengan analisis ragam. Uji pembandingan pasangan bertujuan untuk mengetahui apakah mutu (warna dan penampakan) kacang tanah dengan aplikasi BAL masih sama dengan pembandingan. Uji hedonik terhadap rasa bertujuan mengetahui penilaian panelis terhadap kesukaan kacang tanah dengan aplikasi BAL yang diolah dengan cara dipanggang di dalam oven dan direbus.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. PENELITIAN PENDAHULUAN

1. Analisa Komposisi Kimia dan Populasi Mikroba pada Biji Kacang Tanah Panggang dan Rebus

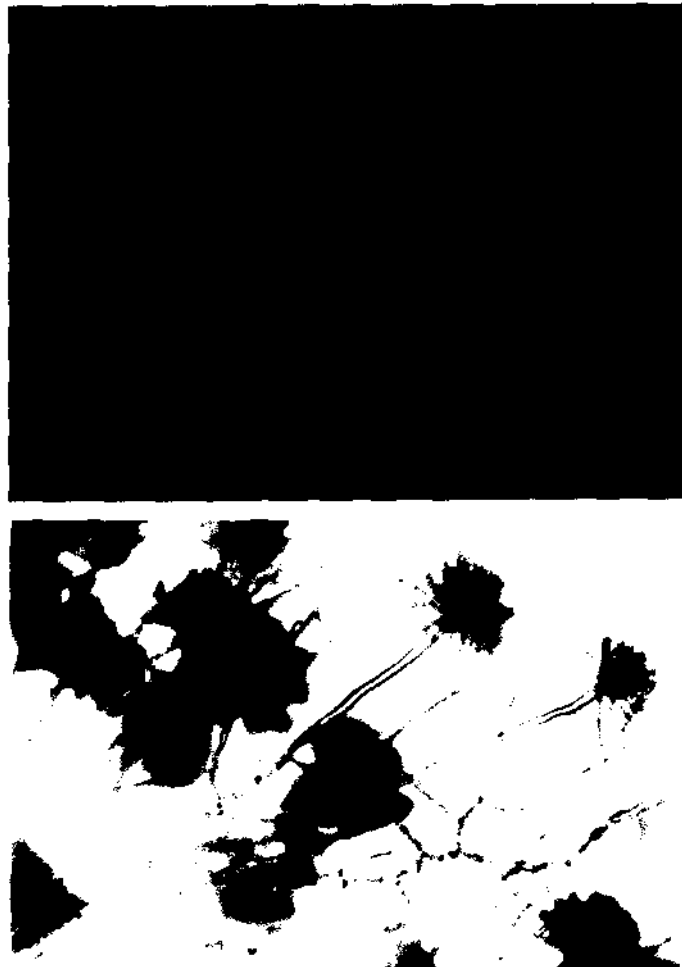
Kadar air kacang panggang (2.75%) yang diperoleh dari toko swalayan lebih rendah daripada kacang rebus (50.51 %) yang diperoleh dari pasar tradisional. Begitu juga aktivitas air kacang panggang (0.59) lebih rendah daripada kacang rebus (0.94). Hal ini disebabkan pada proses pengolahan kacang rebus tidak mengalami tahap pengeringan seperti halnya pada kacang panggang. Menurut Wahjudi (2000), proses pemanggangan dilakukan pada suhu 50 – 60⁰C selama 4 – 6 jam.

Nilai pH dari kedua produk juga tidak jauh berbeda yaitu untuk kacang panggang dan kacang tanah masing-masing adalah 6.35 dan 6.21. Analisa dilakukan secepat mungkin setelah pengambilan sampel dilakukan (kurang dari satu hari), sehingga diharapkan produk masih segar (tidak banyak mengalami perubahan).

Kadar garam kacang oven (2.04%) lebih tinggi dari pada kacang rebus (1.26%). Selain itu proses perebusan juga mempengaruhi konsentrasi garam kacang rebus, karena pada saat perebusan, garam yang ada kemungkinan ikut larut dalam air perebusan. Menurut Wahjudi (2000) garam yang ditambahkan pada kacang panggang sebesar 5 – 10 % dari berat kacang yang diolah.

Populasi kapang yang terdapat pada biji kacang panggang relatif rendah, yaitu 3.0×10^1 koloni/g. Aktivitas air (a_w) kacang panggang yaitu 0.59. Pitt dan Hocking (1997) menyatakan bahwa *A. flavus* dapat tumbuh pada a_w 0.78-0.84. Aviarta (1994) melaporkan kulit kacang tanah merupakan pelindung terhadap serangan berbagai jenis kapang. Kontaminasi *A. flavus* lebih banyak terjadi pada kacang yang telah mengalami kerusakan kulit polong dan butir. Koloni *A. flavus* yang diisolasi dari biji kacang tanah yang berasal dari kacang tanah panggang

polong pada media *Potato Dextrose Agar* dan foto mikrograf dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. (a). Koloni *A. flavus* yang diisolasi dari kacang tanah panggang bentuk polong pada media *Potato Dextrose Agar* setelah 7 hari inkubasi pada suhu ruang.
(b). Foto mikrograf *A. flavus* (100X).

Pada biji kacang rebus mikroba yang ditemukan umumnya adalah khamir dengan populasi sebesar 3.6×10^4 koloni/g. Keberadaan khamir tersebut kemungkinan karena kontaminasi setelah pengolahan. Kacang tanah direbus pada suhu 100°C selama 45 menit. Menurut Fardiaz (1989) suhu optimum untuk pertumbuhan khamir yaitu $25 - 30^{\circ}\text{C}$ dan suhu maksimum pertumbuhannya $35 - 47^{\circ}\text{C}$. Aktivitas air (a_w) pada kacang tanah rebus adalah 0.94. Menurut Fardiaz (1989) batas aktivitas air terendah untuk pertumbuhan khamir berkisar antara $0.88 - 0.94$.



Tingginya nilai a_w tersebut memungkinkan kapang tidak tumbuh pada kacang sehingga hanya khamir yang tumbuh. Komposisi kimia dan mikroba pada produk kacang tanah panggang dan kacang tanah rebus dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Penentuan Konsentrasi BAL untuk Perendaman Kacang Tanah Mentah Polong

Perendaman kacang tanah di dalam suspensi BAL dengan konsentrasi k_1 sel/ml dan spora *A. flavus* (10^4 spora/ml) tidak menunjukkan adanya pertumbuhan *A. flavus* dari mulai perendaman t_1 sampai t_7 jam perendaman, sehingga penurunan populasi *A. flavus* yang disebabkan oleh BAL dan waktu yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan *A. flavus* tidak dapat diketahui. Hal ini dapat dibuktikan dengan tidak adanya koloni *A. flavus* pada media PDA, sedangkan pada media MRSA populasi BAL cukup tinggi (10^9 sel/ml). Hal ini disebabkan konsentrasi awal BAL yang ditambahkan terlalu tinggi sehingga menghambat pertumbuhan *A. flavus* secara total.

Perendaman kacang tanah di dalam suspensi BAL dengan konsentrasi k_2 sel/ml menunjukkan adanya koloni *A. flavus* pada media PDA, dan koloni BAL pada media MRSA, sehingga penurunan populasi *A. flavus* oleh BAL dan waktu perendaman yang optimum dapat diketahui.

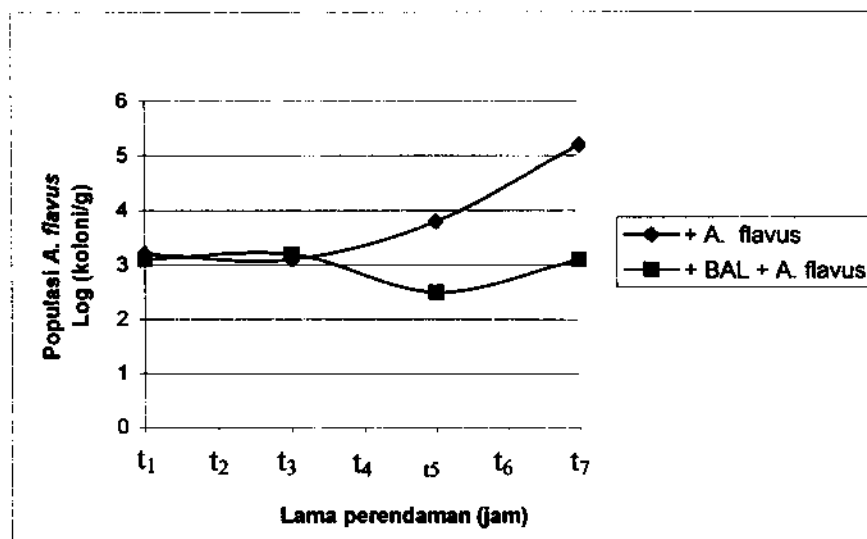
B. PENELITIAN UTAMA

1. Pengaruh Suspensi Sel BAL terhadap Populasi *A. flavus* dalam Kacang Tanah Mentah Polong

Pada Gambar 12 dan Lampiran 2 terlihat bahwa *Lactobacillus plantarum* sa28k dapat menghambat pertumbuhan *A. flavus* setelah kacang tanah mentah polong direndam selama t_5 jam. Selama perendaman sampai dengan t_3 jam, populasi *A. flavus* yang terdapat pada kacang tanah cenderung tidak berubah yaitu sekitar 10^3 koloni/g. Setelah t_5 jam terjadi penurunan populasi *A. flavus* oleh BAL dimulai setelah t_3 jam perendaman

pertama sebesar 1 satuan log menjadi 10^2 koloni/g atau potensi antimikotiknya sebesar 72.5 %.

Sebagai kontrol digunakan kacang tanah mentah yang direndam di dalam larutan NaCl 0.85 % yang diinokulasi dengan spora *A. flavus* (10^4 spora/ml). Populasi *A. flavus* pada kontrol cenderung tidak berubah sampai t_3 jam perendaman yaitu sebesar 3 satuan log. Peningkatan waktu perendaman dapat meningkatkan populasi *A. flavus*, yaitu setelah perendaman t_7 jam populasi pada kontrol meningkat sebesar 2 satuan log, sedangkan pada penambahan BAL juga meningkat, tetapi hanya sebesar 1 satuan log.

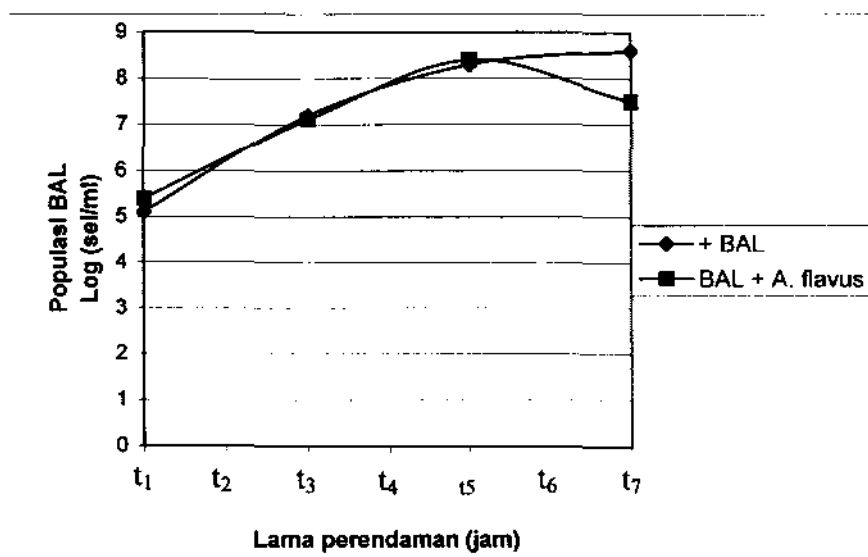


Gambar 12. Populasi *A. flavus* pada kacang tanah mentah polong selama perendaman di dalam suspensi sel BAL.

Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan Hidayat (2001) yaitu penurunan populasi *A. flavus* pada media LTB terjadi setelah suspensi *L. plantarum* sa28k dikontakkan dengan *A. flavus* selama t_5 jam yaitu sebanyak 1 log koloni/ml. Menurut Gourama dan Bullerman (1995) *Lactobacillus* spp. menurunkan viabilitas spora *A. flavus* dalam media LTB sebesar 3 satuan log selama 24 jam perendaman. Riyanto (2002) melaporkan bahwa suspensi *L. plantarum* sa28k mampu menurunkan viabilitas *A. flavus* dalam media LTB sebesar 2 log setelah waktu kontak 24 jam dan 4 log setelah 48 jam. Menurut Gourama dan

Bullerman (1995) senyawa antimikotik yang diproduksi oleh *Lactobacillus* spp. merupakan senyawa dengan BM 1000, sedangkan menurut Batish *et al.* (1991) senyawa ini diduga merupakan polipeptida alami. Corsetti *et al.* (1998) menyebutkan bahwa asam kaproat memegang peranan utama dalam menghambat pertumbuhan kapang.

Untuk mengetahui populasi BAL setelah perendaman, sebagai kontrolnya yaitu kacang tanah mentah yang hanya direndam di dalam suspensi BAL (k_2 sel/ml). Pada Gambar 13 terlihat bahwa pada kontrol, populasi BAL pada t_5 sampai t_7 jam perendaman cenderung tidak berubah yaitu sebesar 10^8 sel/g kacang tanah, sedangkan perendaman di dalam suspensi BAL dan *A. flavus* mengakibatkan turunnya populasi BAL sebesar 1 satuan log menjadi 10^7 sel/g kacang tanah. Hal ini mengakibatkan *A. flavus* mendapat nutrisi lebih banyak dan populasinya meningkat sampai t_7 jam. Dengan demikian *L. plantarum* sa28k mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus* yang terdapat pada kacang tanah pada lama perendaman t_5 jam.

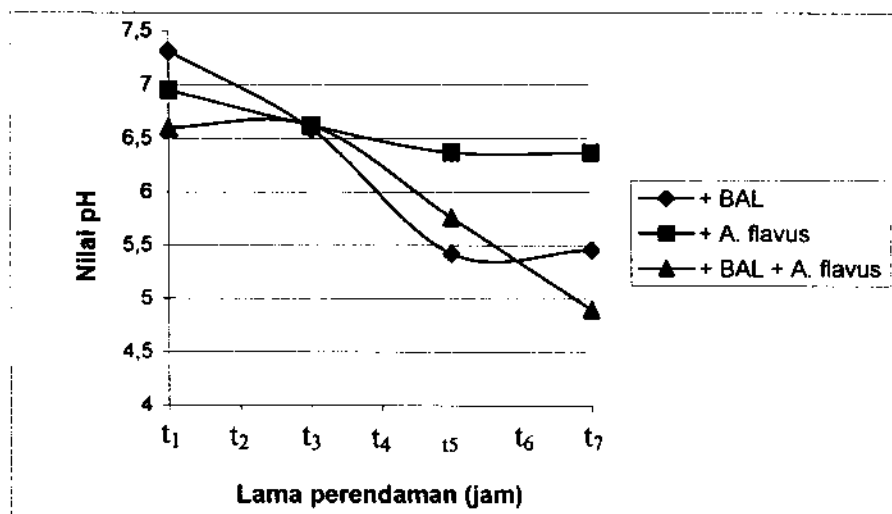


Gambar 13. Populasi BAL pada kacang tanah mentah polong selama perendaman di dalam suspensi sel BAL.

Kacang tanah mentah bentuk polong yang direndam di dalam suspensi BAL dan *A. flavus*, kacang tanah yang hanya direndam dengan

A. flavus dan kacang tanah yang hanya direndam dengan suspensi BAL ternyata mengalami penurunan pH sampai perendaman selama t_7 jam (Gambar 15). Penurunan pH pada kacang tanah yang hanya direndam dengan *A. flavus* diduga karena fermentasi gula oleh kapang menjadi asam-asam organik (Wiseman dan Marth, 1981). Menurut Pitt dan Hocking (1997) *A. flavus* menghasilkan asam aspergilat dan asam siklopiazonat. pH pertumbuhan *A. flavus* yaitu 3.4 – 11, sedangkan pH optimumnya yaitu 7. Penurunan pH kacang tanah yang hanya direndam dengan BAL disebabkan oleh metabolit asam yang dihasilkan BAL.

Populasi *A. flavus* pada kacang tanah yang sebelumnya direndam dengan suspensi BAL (k_2 sel/ml) dan *A. flavus* (10^4 spora/ml) selama t_5 jam cenderung menurun, tetapi apabila perendaman dilanjutkan sampai t_7 jam populasi *A. flavus* meningkat, sedangkan pH pada kacang tanah masih menurun sampai 4.9 (Gambar 12 dan 14). Hidayat (2001) melaporkan bahwa media LTB yang diberi *L. plantarum* sa28k pHnya tidak banyak berubah dari hari ke-3 sampai hari ke-15 yaitu 4.0 – 4.3.



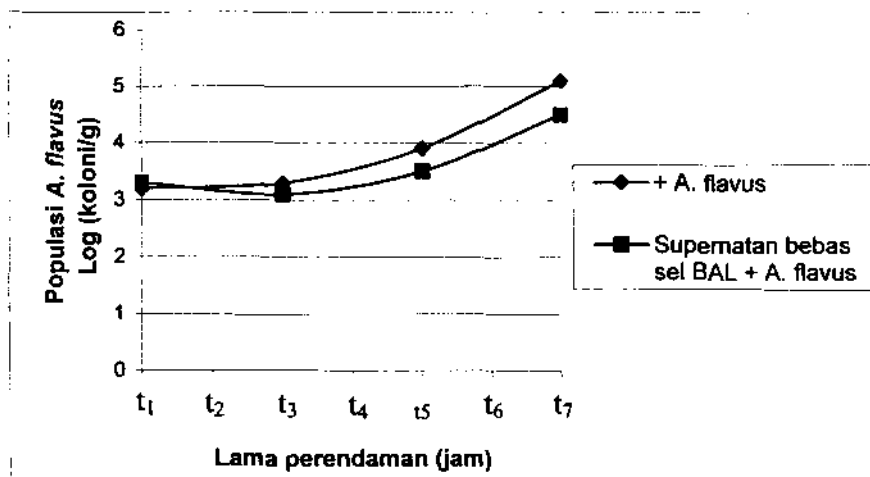
Gambar 14. Pengaruh lama perendaman kacang tanah mentah polong dengan dan tanpa BAL terhadap pH.

Hal ini membuktikan bahwa pertumbuhan kapang tidak dipengaruhi oleh pengasaman. Menurut Gourama dan Bullerman (1995) pengasaman nonfermentasi dengan 1 N HCl dan asam laktat (85 %)

sampai pH 4.2 tidak dapat menghambat pertumbuhan kapang. Hidayat (2001) menambahkan bahwa pada media LTB yang diinokulasi dengan *L. plantarum* sa28k menghambat pertumbuhan miselia kapang, sedangkan pH nya relatif konstan (4.0 – 4.3). Oleh karena itu penghambatan *A. flavus* oleh *L. plantarum* sa28k diduga bukan hanya disebabkan oleh produksi asam, tetapi juga karena adanya kompetisi nutrisi antara BAL dengan *A. flavus*.

2. Pengaruh Supernatan Bebas Sel BAL terhadap Populasi *A. flavus* dalam Kacang Tanah Mentah Polong

Pada Gambar 15 dan Lampiran 2 terlihat bahwa supernatan bebas sel BAL mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus* sampai t_3 jam pertama kurang dari 1 log.. Pada kontrol (kacang tanah mentah bentuk polong yang hanya direndam dengan *A. flavus*) populasi *A. flavus* meningkat. Setelah t_5 jam perendaman, peningkatan populasi *A. flavus* tidak dapat dihambat oleh supernatan BAL. Pada perendaman sampai t_7 jam, populasi *A. flavus* mencapai 10^4 koloni/g sedangkan pada kontrol mencapai 10^5 koloni/g.



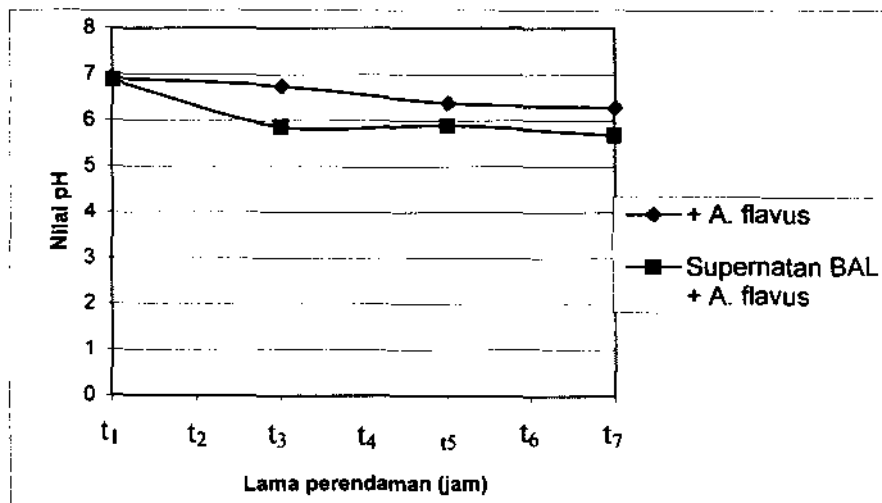
Gambar 15. Populasi *A. flavus* pada kacang tanah mentah polong selama perendaman di dalam supernatan bebas sel BAL.

Gourama dan Bullerman (1995) melaporkan bahwa adanya sel BAL (*L. acidophilus*, *L. bulgaricus* dan *L. plantarum*) pada sampel

mampu menghambat pertumbuhan kapang dan produksi aflatoxin B₁ dan G₁ dari *A. flavus* subs. *parasiticus*, tetapi penggunaan supernatan bebas sel tidak mampu menghambat pertumbuhan kapang meskipun mampu menghambat produksi aflatoxin. Riyanto (2002) juga melaporkan supernatan bebas sel *L. plantarum* sa28k tidak mampu menghambat *A. flavus* sampai waktu kontak 48 jam.

Daya hambat supernatan bebas sel lebih rendah daripada suspensi sel mungkin disebabkan pada suspensi, sel BAL masih terus tumbuh sehingga mampu memproduksi asam dan metabolit lain. Selain itu juga terjadi kompetisi antara sel BAL dengan kapang dalam mendapatkan nutrisi dari substrat. Hal ini tidak terjadi pada supernatan bebas sel karena kapang tidak mempunyai pesaing dalam mendapatkan nutrisi sehingga pertumbuhannya tidak dihambat.

Pada Gambar 16 terlihat bahwa selama t₃ jam pertama perendaman dalam supernatan bebas sel BAL, pH kacang tanah mengalami sedikit penurunan dari 6.9 sampai 5.9. Populasi *A. flavus* juga mengalami sedikit penurunan meskipun kurang dari 1 log (Gambar 15).



Gambar 16. Perubahan pH kacang tanah mentah polong elama perendaman di dalam supernatan bebas sel BAL.

Perendaman lebih lanjut sampai t₇ jam tidak mempengaruhi pH kacang tanah lagi. Riyanto (2002) melaporkan bahwa pada supernatan

bebas sel *L. plantarum* sa28k yang pH awalnya diatur menjadi 7.05 potensi antimikotiknya terhadap *A. flavus* turun dari 36 % menjadi 31 %. Tujuan pengaturan pH awal ini yaitu untuk mengetahui potensi antimikotik BAL apabila pH lingkungan netral.

3. Reduksi Kandungan Aflatoksin oleh BAL

Jenis aflatoksin yang sering ditemukan pada kacang tanah adalah B₁, B₂, dan G₁. Dari ketiga jenis aflatoksin tersebut aflatoksin B₁ yang paling sering ditemukan (Pitt dan Hocking, 1997). Diketahui bahwa aflatoksin sangat stabil, dengan beberapa cara perlakuan pemanasan tidak sepenuhnya mengurangi toksisitasnya. Heathcote (1984) menyatakan titik leleh aflatoksin B₁, B₂, G₁ dan G₂ masing-masing yaitu 267, 303 – 306, 257 – 259 dan 237 – 240⁰C. Oleh karena itu pengolahan kacang tanah dengan perebusan pada suhu 100⁰C dan pemanggangan pada suhu 60⁰C selama 6 jam tidak efektif menurunkan kandungan aflatoksin.

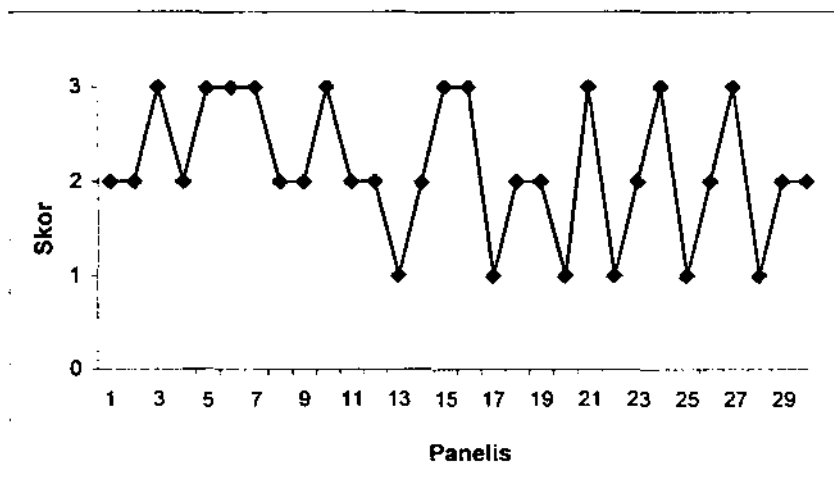
Pada kacang tanah mentah polong yang kandungan aflatoksin B₁ awalnya sebesar 114.29 ppb, setelah direndam dengan suspensi sel BAL (k₂ sel/ml) selama t₅ jam ternyata kandungan aflatoksinnya turun menjadi 39.07 ppb atau aktivitas antiaflatoksinik sebesar 65.8 %. Kandungan aflatoksin tersebut masih di atas batas toleransi yang direkomendasikan. Berdasarkan Standar Codex Alimentarius kerjasama FAO/WHO batas maksimum total aflatoksin pada kacang tanah yaitu 15 ppb. Jay (2000) melaporkan batas maksimum aflatoksin yang ditetapkan oleh FDA pada kacang tanah dan makanan berbasis kacang tanah yaitu sebesar 20 ppb. Kadar aflatoksin terendah yang dapat terdeteksi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis yaitu 0.5 ng (WHO, 1979).

Mekanisme pengikatan aflatoksin oleh bakteri belum diketahui dengan pasti tetapi secara *in vitro* diperkirakan bahwa molekul aflatoksin akan terikat pada permukaan komponen dinding sel *Lactobacillus rhamnosus* sehingga menurunkan kemampuan pelekatan bakteri tersebut pada sel epitel usus (Kankaanpaa *et al.*, 1999).

4. Evaluasi Organoleptik

a. Warna

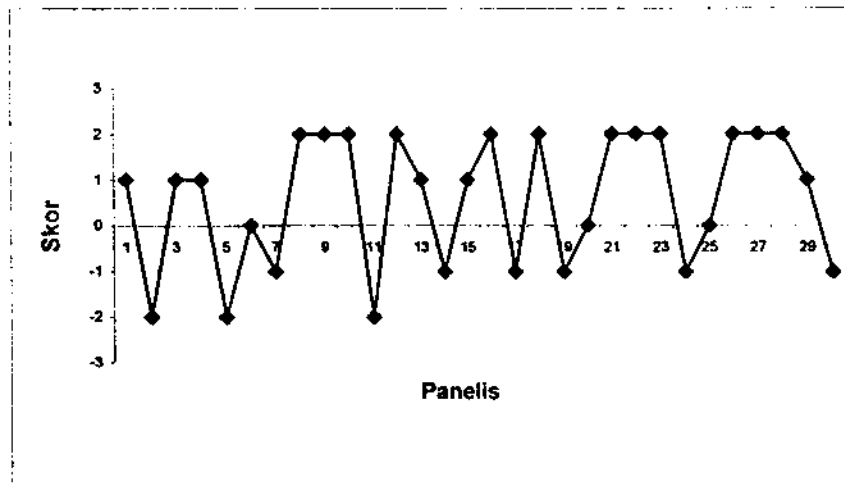
Skor yang diberikan untuk uji perbandingan pasangan terhadap warna berkisar dari -3 sampai 3 dimulai dari kriteria sangat kurang baik (-3) sampai sangat lebih baik (+3). Hasil uji perbandingan pasangan terhadap warna dan penampakan kacang tanah panggang dapat dilihat pada Gambar 17 dan Lampiran 6. Warna kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL lebih cerah dibanding kacang tanah oven tanpa BAL. Rata-rata skor penilaian panelis untuk kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL adalah 2.1, berarti kisaran penilaian kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL yaitu lebih baik sampai sangat lebih baik dibandingkan dengan kacang tanah panggang tanpa aplikasi BAL.



Gambar 17. Skor penilaian uji perbandingan pasangan terhadap warna kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL.

Hasil uji perbandingan pasangan terhadap warna dan penampakan kacang tanah rebus dapat dilihat pada Gambar 18 dan Lampiran 3. Dari pengujian organoleptik (30 panelis) terhadap warna kulit kacang tanah bentuk polong, rata-rata warna kacang tanah rebus bentuk polong dengan aplikasi BAL memperoleh skor 0.6 yang berarti penilaian panelis terhadap warna kacang rebus dengan

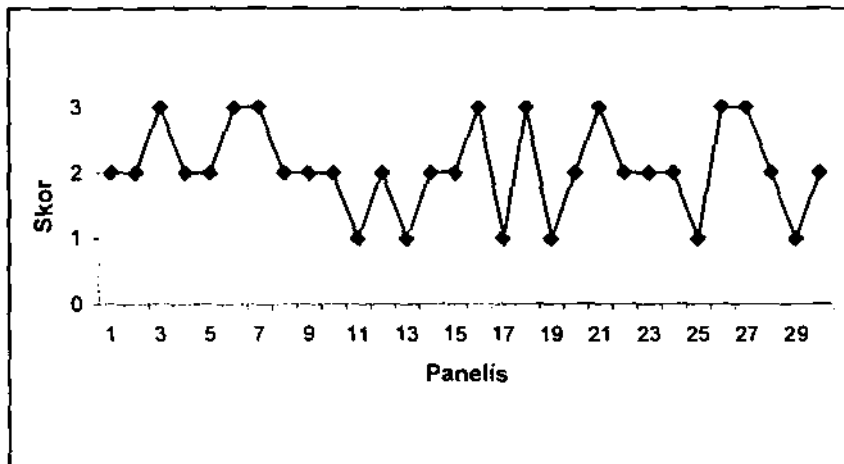
perendaman BAL yaitu netral sampai agak lebih baik apabila dibandingkan dengan warna kacang tanah rebus tanpa perendaman dengan BAL. Dari data tersebut dapat dijelaskan bahwa panelis lebih menyukai warna kacang rebus dengan aplikasi BAL.



Gambar 18. Skor penilaian uji perbandingan pasangan terhadap warna kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL.

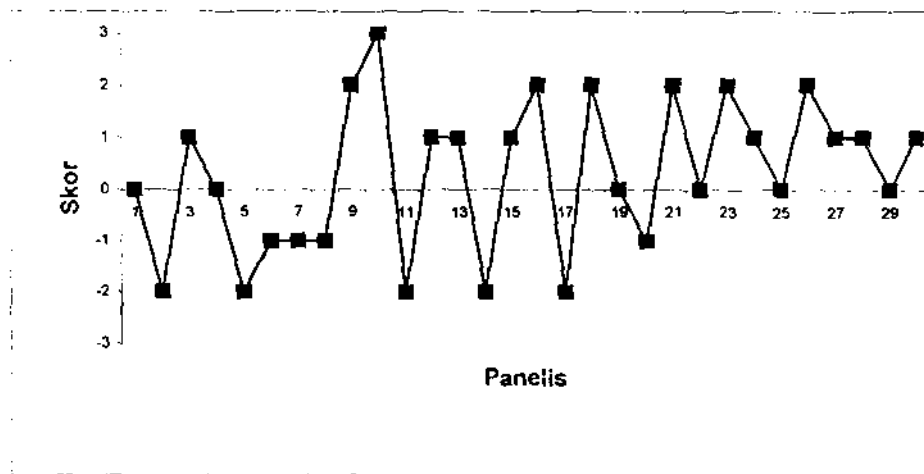
b. Penampakan

Skor yang diberikan untuk uji perbandingan pasangan terhadap penampakan sama dengan skor yang diberikan pada warna. Penampakan kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL lebih baik dibanding kacang tanah panggang tanpa BAL. Kisaran penilaian panelis terhadap kacang tanah panggang dengan BAL yaitu lebih baik sampai sangat lebih baik (2.1). Dengan demikian aplikasi BAL dapat memperbaiki penampakan kacang tanah panggang bentuk polong (Gambar 19).

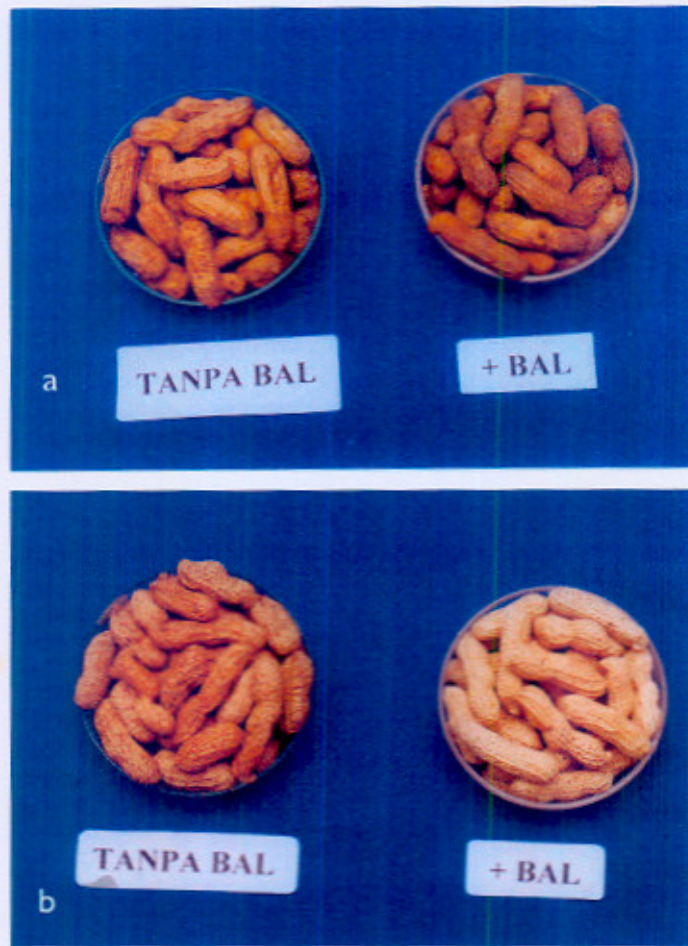


Gambar 19. Skor penilaian uji perbandingan pasangan terhadap penampakan kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL.

Hasil pengujian organoleptik dari 30 panelis terhadap penampakan kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL menunjukkan skor rata-rata adalah 0.3 (Gambar 20 dan Lampiran 3) Hal ini berarti pengolahan kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL menghasilkan produk dengan penampakan sama sampai agak lebih baik dibanding kacang tanah rebus tanpa aplikasi BAL. Dengan demikian, aplikasi BAL sedikit memperbaiki penampakan dari kacang tanah rebus. Penampakan kacang tanah polong panggang dan rebus dengan dan tanpa aplikasi BAL dapat dilihat pada Gambar 21



Gambar 20. Skor penilaian uji perbandingan pasangan terhadap penampakan kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL.



Gambar 21. (a). Penampakan kacang tanah rebus dengan dan tanpa BAL
(b). Penampakan kacang tanah polong panggang dengan dan tanpa BAL

c. Rasa

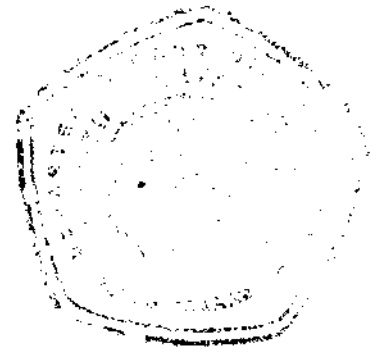
Skor yang diberikan untuk uji hedonik terhadap rasa berkisar dari 1 sampai 6 dimulai dari kriteria tidak suka (1) sampai sangat suka (6). Dari segi rasa, kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL tidak begitu disukai oleh panelis. Kisaran penilaian panelis terhadap kacang panggang dengan aplikasi BAL dan tanpa BAL masing-masing yaitu agak tidak suka sampai netral (2.9), dan netral sampai agak suka (3.9). Rasa kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL berbeda nyata pada selang kepercayaan 99 % (Lampiran 10) dengan kacang tanah panggang tanpa BAL meskipun sebanyak 76.7 % panelis tidak menemukan adanya

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

rasa asam pada produk (Lampiran 8). Dengan demikian, ada faktor lain yang lebih menentukan rasa produk dimana rasa asam tidak mempengaruhi rasa dari produk. Komentar yang disampaikan panelis menyebutkan bahwa kacang tanah panggang dengan aplikasi BAL rasanya agak pahit. Hal ini kemungkinan disebabkan terjadinya reaksi *maillard* pada saat kacang dipanggang karena sebelumnya direndam di dalam susu skim yang mengandung BAL.

Hasil uji hedonik terhadap rasa kacang tanah rebus dapat dilihat pada Lampiran 4. Skor nilai yang diberikan panelis terhadap rasa kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL lebih tinggi daripada kacang tanah rebus tanpa BAL masing-masing yaitu 4.1 (kisaran penilaian produk dari agak suka samapi suka) dan 3.1 (kisaran penilaian produk dari biasa/netral sampai agak suka)

Sebanyak 73.3 % panelis menyatakan bahwa pada produk kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL tidak terdeteksi rasa asam (Lampiran 5). Hal ini membuktikan bahwa dari segi rasa, panelis dapat menerima kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL. Uji hedonik dari 30 panelis menunjukkan bahwa rasa kacang tanah rebus dengan aplikasi BAL berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95 % (Lampiran 9). Perbedaan rasa yang diterima panelis berarti bukan dari segi rasa asam melainkan faktor lain misalnya rasa gurih yang berasal dari larutan susu skim perendam.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Penelitian Pendahuluan

Kadar air kacang tanah polong panggang dan kacang tanah polong rebus masing-masing yaitu 2.75 dan 50.51 % (bb) dengan nilai a_w masing-masing 0.59 dan 0.94. Kacang panggang dan kacang rebus mempunyai pH masing-masing 6.35 dan 6.21. Kadar garam kacang panggang dan kacang rebus adalah 2.04 % dan 1.26 %. Mikroba yang ditemukan pada kacang tanah panggang adalah kapang yang populasinya $<3.0 \times 10^1$ koloni/g, sedangkan pada kacang tanah rebus adalah khamir (3.6×10^4 koloni/g).

Isolat *L. plantarum* sa28k memiliki aktivitas antimikotik dan antitoksigenik terhadap *A. flavus* dan aflatoksin. Konsentrasi optimum BAL untuk perendaman kacang tanah mentah polong adalah k_2 sel/ml.

2. Penelitian Utama

Suspensi sel bakteri asam laktat *L. plantarum* sa28k dapat mereduksi populasi *A. flavus* selama perendaman t_5 jam pada kacang tanah bentuk polong sebesar satu satuan log. Setelah t_7 jam populasi *A. flavus* naik satu satuan log, sedangkan supernatan bebas selnya pada t_3 jam pertama mampu mereduksi populasi *A. flavus* kurang dari satu log.

Perendaman kacang tanah polong di dalam suspensi sel BAL menyebabkan penurunan pH dari 6.6 – 4.9. Sedangkan di dalam supernatan bebas sel BAL penurunan pHnya dari 6.9 – 5.7. Aktivitas antiaflatoksigenik suspensi sel *L. plantarum* sa28k adalah 65.8 %.

Dari hasil uji organoleptik penambahan BAL dapat meningkatkan penerimaan panelis terhadap rasa kacang rebus tetapi tidak pada kacang panggang. Aplikasi BAL pada kacang tanah juga dapat memperbaiki warna dan penampakan kacang panggang serta kacang rebus.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber ;
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Aplikasi BAL (*L. plantarum* sa28k) dilakukan di awal proses pengolahan kacang tanah polong panggang dan kacang tanah polong rebus. Konsentrasi BAL yang digunakan yaitu k_2 sel/ml dan waktu perendaman kacang tanah mentah polong adalah t_5 jam.

B. SARAN

Hasil penelitian ini sebaiknya dilanjutkan dengan penelitian tentang:

1. Sifat antiaflatoksigenik dari *L. plantarum* sa28k yang dikombinasi dengan proses pengolahan.
2. Umur simpan produk pangan berbasis kacang tanah yang diolah dengan aplikasi BAL.





DAFTAR PUSTAKA

@Hak cipta milik IPB University

- AOAC. 1984. Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemistry. Washington, DC.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC.
- Apriyantono, A.,D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, S. Yasni dan S. Budianto. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan. PAU pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Aviarta. 1994. Pengaruh Kondisi Pemanasan Basah terhadap Penurunan Kadar Aflatoksin. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Badan Pusat Statistik. [BPS]. 2000. Jakarta.
- Batish, V.K.,S. Grover dan I. Ram. 1991. Studies on environmental and nutritional factors on production of antifungal substances by *Lactobacillus acidophilus*. Food Microbial. 7:199-206.
- Betina V. 1989. Mycotoxins : Chemical, Biological and Environmental Aspects. Elsevier Science Publishing Company, Inc., New York.
- Brock, T.D. 1970. Biology of Microorganism Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs.
- Considine, D.M. dan G.D. Considine. 1982. Foods and Food Production Encyclopedia. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Corsetti, A., M. Gobbetti, J. Rossi dan P. Damiani. 1998. Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria : Identification of a mixture of organic acid produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. Appl Microbial Biotechnology 50 : 253 – 256.
- Diaz, R.J., R.M. Rioz-Sanches, M. Desmun, J.L. Ruiz-Dorba dan J.C. Diard.1993. Plantaricins S dan T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LP C010 isolated from a green olive fermentation. Applied and Environmental Microbiology May 1993 : 1416-1426.
- Diener, U.L. dan N.D. Davis. 1969. Aflatoxin Formation by *Aspergillus flavus*. Di dalam : Goblatt L.A., (ed). Aflatoxin Scientific Background, Control and Implication. Academic Press, New York.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Fardiaz, S. dan R. Hadi. (1990). Bakteri Asam Laktat dan Peranannya dalam Pengawetan Makanan. *Media Teknologi Pangan*. 4 (1) : 73 – 90. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Frazier, W.C. dan D.C. Westhoff. 1978. *Food Microbiology*. Mc. Graw-Hill Inc., New York.
- Garraway, O. M dan R.C.Evans. 1984. *Fungal Nutrition and Physiology*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Gourama, H. 1991. Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* in the presence of *Lactobacillus* Species. Ph.D. Dissertat University of Nebraska, Lincoln.
- Gourama, H. dan L.B. Bullerman. 1995. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* sp. *J. Food Protection* 58 (11) : 1249-1256.
- Handayani, A. N. 2001. Mempelajari Sifat Antimikotik *Lactobacillus plantarum* kik terhadap *Penicillium citrinum*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Heathcote, J.G. 1984. Aflatoxin and related toxins. Di dalam: Betina V (ed). *Mycotoxins; Production, Isolation, Separation and Purification*. Elsevier Science Publisher, Amsterdam. Hlm 89-130.
- Hidayat, A. 2001. Mempelajari Potensi Antimikotik *Lactobacillus plantarum* sa28k terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Idawati. 1996. Isolasi dan Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Bersifat Antimikroba Ikan Peda dan Kecap Ikan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Indian Council of Agricultural Research. 1987. Aflatoxin in Groundnut, Technology for Better Corps. *Krishi anusandhan Bhavan*. New Delhi.
- Ismail, M. 2002. Sifat Antimikotik Bakteri Asam Laktat yang Berasal dari Dadih dan Tempoyak terhadap beberapa Jenis Kapang. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Jay, J.M. 2000. *Modern Food Microbiology*. Sixth edition. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg.



- Ray, B. dan M.A. Daeschel. 1994. Bacteriocins of starter culture bacteria. Di dalam : Natural Antimicrobial System and Food Preservation. Dillon, V.M. dan R.G. Board (ed). Biddles Ltd., Guildford.
- Riyanto, Y. 2002. Aktivitas Antimikotik Bakteri Asam Laktat terhadap Kapang *Fusarium graminearum*, *Penicillium citrinum* dan *Aspergillus flavus*. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Robinson, R.K. 1981. Dairy Microbiology. Vol I, Appl. Science. Publ., London.
- Soekarto, S. T. 1985. Penilaian Organoleptik. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta IPB. Bogor.
- Solihati, A. 1995. Isolasi dan Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Bersifat Antimikroba dari Sauerkraut. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Stamer, J.R. 1980. The lactic acid bacteria; Microbes of diversity. Food Technology 33 (1) : 60-65.
- Sumarno. 1993. Status Kacang Tanah di Indonesia. Di dalam : Kasno, A. Winarto dan Sunardi (ed). Kacang Tanah. Balai Penelitian Tanaman Pangan, Malang.
- Troller, I.A. dan J.V. Stinson. 1981. Moisture requirements for growth and metabolite production by lactic acid bacteria. Appl. and Environmental Microbiol. 42(4) : 682.
- Wahjudi, E.P. 2000. Membuat Kacang Oven. Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Wiseman, D.W. dan E.H Marth. 1981. Growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* when in the presence of *Streptococcus lactis*. Mycopathologia 73 : 49-56.
- Woodroof, J.P 1996. Peanuts : Production, Processing, Products. The AVI Publishing Company, Inc., Westport.
- World Health Organization. 1979. Mycotoxins. WHO, Geneva.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.