

F/T PG  
2005  
123

**SKRIPSI**

**PENGARUH KOMBINASI PERENDAMAN KACANG TANAH DALAM  
SUSPENSI *Lactobacillus plantarum* kik DAN PROSES PENYANGRAIAN  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus* DAN KANDUNGAN  
AFLATOKSIN B<sub>1</sub> PADA PENGOLAHAN ENTING-ENTING**

Oleh  
**ETRIANTO KURNIAWAN**  
**F02498069**



2004  
**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**  
**DEPARTEMEN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI**  
**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**  
**BOGOR**

**PENGARUH KOMBINASI PERENDAMAN KACANG TANAH DALAM  
SUSPENSI *Lactobacillus plantarum* kik DAN PROSES PENYANGRAIAN  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus* DAN KANDUNGAN  
AFLATOKSIN B<sub>1</sub> PADA PENGOLAHAN ENTING-ENTING**

**Skripsi**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN  
Pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi,  
Fakultas Teknologi Pertanian,  
Institut Pertanian Bogor**

**Oleh  
ETRIANTO KURNIAWAN  
F02498069**

**2004  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR**

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

PENGARUH KOMBINASI PERENDAMAN KACANG TANAH DALAM  
SUSPENSI *Lactobacillus plantarum* kik DAN PROSES PENYANGRAIAN  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus* DAN KANDUNGAN  
AFLATOKSIN B<sub>1</sub> PADA PENGOLAHAN ENTING-ENTING

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN  
Pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi,  
Fakultas Teknologi Pertanian,  
Institut Pertanian Bogor

Oleh  
ETRIANTO KURNIAWAN  
F02498069

Dilahirkan pada tanggal 15 Juni 1979  
Di Surakarta

Tanggal lulus : 19 September 2004

*M Nurwiti* *Betty Sri Laksmi Jenie, MS*  
*Ir. C.C. Nurwitri A., DAA* *Dosen Pembimbing II* *Prof.Dr.Ir. Betty Sri Laksmi Jenie, MS*  
*Dosen Pembimbing I*



Menyetujui  
Bogor, PENDIDIKAN DAN  
KONSEP PERTANIAN BOGOR  
2004

Etrianto Kurniawan. F02498069. pengaruh kombinasi perendaman kacang tanah dalam suspensi *Lactobacillus plantarum* kik dan proses penyangraian terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> pada pengolahan enting-enting. Di bawah bimbingan Betty Sri Laksmi Jenie dan C.C. Nurwitri A.

---

## RINGKASAN

Kacang tanah sebagai bahan baku pembuatan enting-enting sering terkontaminasi oleh kapang *Aspergillus flavus* yang dapat memproduksi aflatoksin. Hasil identifikasi kapang yang tumbuh pada enting-enting meliputi *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp.. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan untuk mereduksi aflatoksin pada produk kacang tanah sangrai yang diproses menjadi enting-enting dengan memanfaatkan kultur bakteri asam laktat (BAL). Disamping itu dipelajari pula dampak perendaman kacang tanah dalam suspensi BAL terhadap penampakan, warna, tekstur, dan rasa enting-enting.

Pengujian aktivitas antimikotik *L. plantarum* kik pada biji kacang tanah menunjukkan bahwa suspensi *L. plantarum* kik ( $10^8$  CFU/ml) dengan volume perendaman 1 : 2 (kacang tanah : BAL) selama perendaman 24 jam mampu menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* sebesar 1 satuan log dari  $5.0 \times 10^4$  CFU/ml menjadi  $8.9 \times 10^2$  CFU/ml.

Kombinasi perendaman kacang tanah dalam suspensi *L. plantarum* kik ( $10^8$  CFU/ml) selama 24 jam dan dilanjutkan dengan proses penyangraian selama 30 menit ternyata mampu menurunkan AFB<sub>1</sub> sebesar 74.18 % yaitu dari 91.93 ppb menjadi sebesar 23.74 ppb.

Perendaman biji kacang tanah dengan suspensi *L. plantarum* kik ( $10^8$  CFU/ml) selama 24 jam sebelum pengolahan enting-enting mampu memperbaiki penampakan, warna, dan tekstur enting-enting. Sedangkan untuk rasa sampel tidak berbeda nyata dengan kontrol tanpa BAL yang berarti masih dapat diterima oleh panelis pada tingkat kepercayaan 95%.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Kombinasi Perendaman Kacang Tanah dalam Suspensi *Lactobacillus plantarum* kik dan Proses Penyangraian Terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan Kandungan Aflatoksin B<sub>1</sub> pada Pengolahan Enting-enting” sebagai salah satu syarat pelaksanaan tugas akhir pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah mendukung dan memberi bantuan serta bimbingan, terutama kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Betty Sri Laksmi Jenie, MS. selaku dosen pembimbing akademik pertama. Terima kasih atas ilmu, kepercayaan dan kesabarannya.
2. Ir. C.C. Nurwitri, DAA. selaku dosen pembimbing akademik kedua. Terima kasih atas ilmu, kepercayaan dan kesabarannya.
3. Dr. Ir. Yadi Haryadi, MSc selaku dosen penguji. Terima kasih atas kesediannya meluangkan waktu untuk menguji skripsi penulis.
4. Ibu, Bapak tercinta, Pakde Yus, Mbak Imah, Mas Edwin, Endrik, Mas Ade, Mbak Ani, Sarti, dan keponakan-keponakanku Fauzi, Nisa, adiknya Fauzi, Zahra, Rafi. Terima kasih atas kasih sayang, perhatian, kepercayaan, bantuan, dukungan dan do'a yang tak terhingga.
5. Dian Susanti atas kasih sayang, perhatian, kesabaran, do'a dan dukungan, yang tak pernah henti yang diberikan kepada penulis.
6. Melinda Putriana Permata atas kasih sayang dan doanya kepada penulis.
7. Pak Koko, Pak Sidik, Mbak Ari, Pak Rozak, Pak Yahya, Bu Rubiyah, Pak Gatot, Teh Ida, Pak Wahid, Pak Sobirin, Pak Taufik, Bi Sari, Pak Karna, dan Mbak Mar. Terima kasih karena kesabaran dan bantuan kalian sangat berarti.
8. Mbak Risma, Mbak Nur, Mbak Rida, Fitri, Dyah, Ningrum. Terima kasih telah menjadi teman *team-work* yang menyenangkan.
9. Mbak Romsyah dan Ibu Juju di BALITVET. Terima kasih atas bantuannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, sehingga diharapkan adanya penyempurnaan dari semua pihak. Namun demikian, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat. Amin.

Bogor, September 2004

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	i
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	v
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	vi
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	vii
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	1
A. LATAR BELAKANG .....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	4
A. KACANG TANAH .....	4
B. PROSES PEMBUATAN ENTING-ENTING .....	7
C. BAKTERI ASAM LAKTAT .....	9
D. AKTIVITAS ANTIMIKOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT .....	10
E. KAPANG <i>Aspergillus flavus</i> .....	13
F. AFLATOKSIN .....	15
<b>III. BAHAN DAN METODE .....</b>	17
A. BAHAN DAN ALAT .....	17
B. TEMPAT .....	18
C. METODE .....	18
1. Persiapan Sampel .....	18
2. Persiapan Kultur .....	19
a. Persiapan Kultur Bakteri Asam Laktat (Jenie et al.) .....	19
b. Persiapan Spora Kapang <i>A. flavus</i> (Fardiaz, 1989) .....	19
3. Analisa Kimia dan Populasi Mikroba Produk Kacang Tanah ....	21
4. Penentuan Volume dan Waktu Perendaman Kacang Tanah kultur <i>Lactobacillus plantarum</i> kik .....	21
5. Pengaruh Kombinasi Penambahan BAL dan Penyangaian Kacang Tanah terhadap Kandungan Aflatoksin .....	23
6. Evaluasi Organoleptik Enting-enting dengan Penambahan BAL	24

D. ANALISA .....	25
1. Analisa Mikrobiologi .....	25
a. Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat (Fardiaz, 1992) .....	25
b. Perhitungan Jumlah Sel Kapang (Fardiaz, 1992) .....	26
c. Perhitungan Spora Kapang (Fardiaz, 1992) .....	26
d. Pemeriksaan Jenis Kapang “Slide Culture” (Fardiaz, 1989) .....	27
2. Analisa Kadar Air dengan Metode Oven (AOAC, 1984) .....	27
3. Analisa Aktivitas Air atau $a_w$ (Shibaura $a_w$ Meter WA-360) ...	28
4. Analisa pH (Apriyantono et al., 1989) .....	28
5. Evaluasi Organoleptik (Rahayu, 1997) .....	28
6. Penentuan Kandungan Aflatoksin (Balitvet, Bogor) .....	29
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>
A. KARAKTERISTIK KIMIA DAN MIKROBIOLOGI PRODUK ENTING-ENTING.....	30
B. PENGARUH WAKTU PERENDAMAN <i>Lactobacillus plantarum</i> kik TERHADAP PERTUMBUHAN <i>Aspergillus flavus</i> PADA KACANG TANAH .....	34
C. PENGARUH PERENDAMAN <i>L. plantarum</i> kik TERHADAP KANDUNGAN AFLATOKSIN PADA KACANG TANAH DENGAN KOMBINASI PROSES PENYANGRAIAN PADA PEMBUATAN ENTING-ENTING .....	41
D. EVALUASI ORGANOLEPTIK APLIKASI BAL PADA PROSES PEMBUATAN ENTING-ENTING .....	43
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>47</b>
A. KESIMPULAN .....	47
B. SARAN .....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>49</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>55</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Persyaratan mutu biji kacang tanah (SNI 01-3921-1995) .....	4
Tabel 2.	Kandungan gizi kacang tanah per 100 gram .....	5
Tabel 3.	Negara penghasil utama kacang tanah di dunia .....	5
Tabel 4.	Daerah produksi kacang tanah utama di Indonesia .....	6
Tabel 5.	Produksi kacang tanah dari tahun 1996-2000 .....	6
Tabel 6.	Analisa kimia dan mikrobiologi beberapa produk kacang tanah..	30
Tabel 7.	Jumlah kandungan aflatoksin B <sub>1</sub> dan tingkat penurunan aflatoksin oleh <i>L. plantarum</i> kik pada kacang tanah .....	43

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Diagram alir proses pembuatan enting-enting .....	8
Gambar 2.	<i>Aspergillus flavus</i> .....	14
Gambar 3.	Struktur kimia aflatoksin $B_1$ , $B_2$ , $G_1$ , dan $G_2$ (Makfoeld, 1993) .....	15
Gambar 4.	Diagram alir persiapan kultur (a) bakteri asam laktat, (b) kapang .....	20
Gambar 5.	Diagram alir penentuan waktu perendaman BAL untuk mereduksi <i>A. flavus</i> .....	22
Gambar 6.	Diagram alir pengaruh kombinasi penambahan BAL dan penyangraian kacang tanah terhadap kandungan aflatoksin ...	24
Gambar 7.	Evaluasi organoleptik enting-enting dengan penambahan BAL .....	25
Gambar 8.	Gambar <i>Aspergillus flavus</i> berumur 3 hari dengan mikroskop pembesaran 400x .....	33
Gambar 9.	Gambar <i>Aspergillus niger</i> berumur 3 hari dengan mikroskop pembesaran 400x .....	33
Gambar 10.	Gambar <i>Penicillium</i> sp. berumur 3 hari dengan mikroskop pembesaran 400x .....	34
Gambar 11.	Pengaruh waktu perendaman biji kacang tanah dalam suspensi <i>L. plantarum</i> kik ( $10^8$ CFU/ml) terhadap pertumbuhan <i>Aspergillus flavus</i> .....	35
Gambar 12.	Pengaruh waktu perendaman dalam suspensi <i>L. plantarum</i> kik ( $10^8$ CFU/ml) terhadap pertumbuhan <i>Aspergillus flavus</i> pada cairan perendam biji kacang tanah .....	36
Gambar 13.	Pengaruh waktu perendaman biji kacang tanah terhadap populasi <i>L. plantarum</i> kik .....	37
Gambar 14.	Pengaruh waktu perendaman terhadap populasi <i>L. plantarum</i> kik pada cairan perendam biji kacang tanah .....	38
Gambar 15.	Pengaruh waktu perendaman terhadap pH biji kacang tanah .	39
Gambar 16.	Pengaruh waktu perendaman terhadap pH cairan perendam biji kacang tanah .....	40
Gambar 17.	Penampakan kacang tanah dan enting-enting dengan BAL (A) dan tanpa BAL (B) .....	44
Gambar 18.	Nilai rata-rata penilaian panelis terhadap tingkat kesukaan organoleptik enting-enting berdasarkan skala hedonik .....	46
Gambar 19.	Respon panelis terhadap rasa asam pada enting-enting .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Analisa kimia dan mikrobiologi dari beberapa produk kacang tanah .....	55
Lampiran 2.	Pengaruh waktu perendaman <i>L. plantarum</i> kik ( $10^8$ CFU/ml) terhadap pertumbuhan <i>Aspergillus flavus</i> pada biji kacang tanah dan cairan perendam kacang tanah.....	56
Lampiran 3.	Pengaruh waktu perendaman <i>L. plantarum</i> kik ( $10^8$ CFU/ml) terhadap populasi <i>L. plantarum</i> kik pada biji kacang tanah dan cairan perendam biji kacng tanah .....	57
Lampiran 4.	Pengaruh waktu perendaman terhadap pH pada biji kacang tanah dan cairan perendam biji kacang tanah .....	58
Lampiran 5.	Hasil uji hedonik enting-enting .....	59
Lampiran 6.	Hasil output analisa enting-enting dan nilai rata-rata penilaian panelis terhadap tingkat kesukaan organoleptik enting-enting berdasarkan skala hedonik .....	60
Lampiran 7.	Respon panelis terhadap rasa asam pada enting-enting .....	62
Lampiran 8.	Contoh lembar penilaian pada uji organoleptik enting-enting .....	63
Lampiran 9.	Kandungan aflatoksin B <sub>1</sub> pada kacang tanah yang dikombinasikan dengan perendaman BAL dan penyangraian .....	64
Lampiran 10.	Contoh kromatogram pada standar dan sampel .....	65

## I. PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

Manusia umumnya dapat terkontaminasi (tercemar) mikotoksin melalui berbagai cara, baik langsung maupun tidak langsung (Bahri dan Widiastuti, 1998). Manusia dapat tercemar mikotoksin melalui empat cara : 1) mengkonsumsi bahan pangan nabati antara lain (jagung dan kacang tanah) yang tercemar mikotoksin, 2) mengkonsumsi bahan pangan asal ternak (susu, telur, hati, dsb.) yang mengandung mikotoksin primer maupun metabolitnya, 3) menghirup udara yang telah tercemar mikotoksin, dan 4) melalui pekerjaan/profesinya seperti analis atau peneliti yang sehari-harinya berhubungan langsung dengan penggunaan senyawa mikotoksin di laboratorium.

Hasil sampel aflatoksin oleh BPOM di beberapa daerah terhadap kacang tanah tanpa kulit yang dijual di warung, toko, serta supermarket menemukan bahwa di Cimahi, Jawa Barat 3990 ppb, Bandar Lampung 798 ppb, Riau 2052 ppb, Wonosari 329 ppb, DKI Jakarta 1891 ppb, Semarang 1583 ppb, Denpasar 392 ppb. Sedangkan hasil olahan seperti enting-enting, dari empat sampel yang diuji ada satu sampel mengandung aflatoksin sebanyak 144 ppb (Anonim, 2001). Kadar aflatoksin pada kacang tanah bervariasi, dari yang terendah 2,50 ppb (Haryadi dan Setiastuti, 1994) sampai dengan yang tertinggi (satu kasus) yaitu 14,56 ppb (Zahari et al., 1991). Meskipun demikian, katanya, BPOM telah menerapkan batas maksimum aflatoksin pada kacang tanah 20 ppb. Beberapa negara yang menentukan kadar aflatoksin dalam seluruh makanan antara lain Malaysia 35 ppb, India 30 ppb, Srilanka 20 ppb, Thailand 20 ppb, Taiwan 50 ppb, USA 20 ppb, Codex Alimentarius (standar internasional) 15 ppb kecuali susu.

Pengendalian biologis yang paling banyak diterapkan adalah menambahkan senyawa yang dapat mengikat molekul mikotoksin pada pakan sehingga mikotoksin tidak dapat diabsorbsi tubuh. Senyawa-senyawa yang dapat berperan sebagai pengikat mikotoksin antara lain adalah; arang aktif

("activated charcoal"), natrium bentonit, zeolit, aluminosilikat, gamma amino butiric acid (GABA), kultur ragi ("yeast cell wall"), dan *Saccharomyces cerevisiae* (Mobiuddin, 2000). Kultur ragi ("yeast sacc") dan "yeast cell wall" (Bio-Mos) dapat menekan aflatoksin sehingga mengurangi efek negatifnya pada unggas, bahkan menurut Devegowda et al. (1994), senyawa AFB<sub>1</sub> dapat dihambat (dirusak) sampai 88% pada uji "in vitro".

Bakteri asam laktat (*L. rhamnosus* GG dan *L. rhamnosus* LC-705) juga dapat mengikat senyawa AFB<sub>1</sub> (El-Nezami et al., 1998) di dalam saluran pencernaan sehingga menghambat absorpsi AFB<sub>1</sub> ke dalam tubuh dan selanjutnya AFB<sub>1</sub> diekskresikan bersama bakteri tersebut ke luar tubuh (Kankaanpaa et al., 2000). Bakteri lain yang dapat mengikat AFB<sub>1</sub> secara "in vitro" adalah *Bifidobacteria* (Oatley et al., 2000). Hasil penelitian dari Karunaratne et al. (1990) menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat dari silase komersial yaitu *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. plantarum* dapat menghambat pertumbuhan *A. flavus* dan produksi aflatoksin.

Perendaman kacang tanah dalam suspensi *L. plantarum* pi28a ( $a_2$  CFU/ml, selama  $d_2$  jam) mampu mereduksi pertumbuhan *A. flavus* toksigenik sebanyak 2 satuan log dari kontrol tanpa perendaman suspensi BAL. Selanjutnya pengaruh perendaman ini yang dikombinasikan dengan proses penggorengan selama 10 menit mampu mereduksi sebesar 27.37% (146.4 ppb) aflatoksin B<sub>1</sub> dibandingkan dengan kontrol tanpa perendaman suspensi BAL sebesar 201.6 ppb (Dyah, 2003). Suspensi sel bakteri asam laktat *L. plantarum* sa28k ( $k_2$  CFU/ml, selama  $t_5$  jam) dapat mereduksi populasi *A. flavus* pada kacang tanah bentuk polong sebesar 1 satuan log. Aktivitas antiaflatoksigenik suspensi sel *L. plantarum* sa28k ini sebesar 65.8% (Ningrum, 2003). Oleh karena itu masih perlu diupayakan cara lain yang dapat meningkatkan mutu dan keamanan pangan. Salah satu diantaranya adalah dengan menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Berbagai penelitian melaporkan bahwa BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen karena memproduksi pengawet alamiah seperti asam-asam organik (asam laktat, asam asetat, asam format), diasetil, hidrogen peroksida, karbondioksida dan bakteriosin (Larsen et al., 1993).

## **B. TUJUAN PENELITIAN**

Tujuan penelitian ini adalah :

1. untuk menghambat pertumbuhan *A. flavus* dan untuk mereduksi aflatoksin pada produk kacang tanah sangrai yang diproses menjadi enting-enting.
2. untuk mengetahui pengaruh perendaman kacang tanah dalam suspensi BAL terhadap penampakan, warna, tekstur, dan rasa pada produk enting-enting.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. KACANG TANAH

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) termasuk dalam divisi Spermatophyta, subdivisi Angiospermae, kelas Dicotyledoneae, ordo Polypetalae, famili Papilionidae, subfamili Leguminoseae dan genus *Arachis* (Trustinah, 1993). Kacang tanah termasuk tanaman tahunan yang banyak tumbuh di daerah tropis dan sub tropis. Nama lain kacang tanah adalah *Arachis hypogaea* L., sementara dalam bahasa Inggris disebut *groundnut*, *earthnut*, *peanut*, *monkeynut*, *groundpea*, dalam bahasa Prancis disebut *arachide*, dalam bahasa Portugis disebut *amendoim*, dalam bahasa Spanyol disebut *mani*, dan dalam bahasa Hindi disebut *mungphali* (ICRISAT, 1993).

Kacang tanah merupakan sumber minyak nabati, tetapi di Amerika Serikat lebih banyak digunakan sebagai sumber bahan pangan yang dikonsumsi secara langsung. Tiga produk pangan utama yang menggunakan kacang tanah sebagai bahan baku, masing-masing adalah *peanut butter* (55-57%), *salted peanut* (23%), *peanut candies* (20-22%), dan produk lainnya untuk es krim, kacang garing, kacang rebus, dan sebagainya (Considine dan Considine, 1982).

Standar mutu biji kacang tanah dari Standar Nasional Indonesia (SNI) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persyaratan mutu biji kacang tanah (SNI 01-3921-1995)

No	Komponen mutu	Kualitas		
		I	II	III
1	Kadar air, maks (%)	6,0	7,0	8,0
2	Butir rusak, maks (%)	0,0	1,0	2,0
3	Butir belah, maks (%)	1,0	5,0	10,0
4	Butir warna lain, maks (%)	0,0	2,0	3,0
5	Butir keriput, maks (%)	0,0	2,0	4,0
6	Kotoran, maks (%)	0,0	0,5	3,0
7	Diameter, min (mm)	8,0	7,0	6,0

Woodroof (1966) menyatakan bahwa komposisi kacang tanah bervariasi, tergantung pada varietas, tipe tanah, daerah tumbuh, pemeliharaan, pematangan (umur panen), lingkungan penyimpanan, dan faktor-faktor lain. Kandungan gizi kacang tanah dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan gizi kacang tanah per 100 gram \*)

No	Komponen	Jumlah
1	Energi	452,0 kalori
2	Protein	25,3 g
3	Lemak	42,8 g
4	Karbohidrat	21,1 g
5	Kalsium	58,0 mg
6	Besi	1,3 g
7	Fosfat	335,0 mg
8	Vit. C	3,0 mg
9	Vit. B1	0,3 mg
10	Air	4,0 g

\*Hardisyah dan Briawan (1998)

Kacang tanah telah tersebar ke seluruh dunia dengan total luas panen sekitar 19 juta ha dan produksinya sekitar 20 juta ton biji kering per tahun. Negara penghasil utama kacang tanah di dunia dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Negara penghasil utama kacang tanah di dunia\*)

Negara	Luas panen (ha)	Produktivitas (ton/ha)	Produksi (ton/th)
India	9.002.000	0,9	8.758.946
China	2.208.000	1,0	2.208.000
Nigeria	1.441.000	0,9	520.000
Senegal	1.134.000	0,8	777.000
Brazil	803.000	1,4	288.000
Amerika Serikat	714.000	1,8	1.682.000
Birma	560.000	1,0	574.000
Indonesia	484.000	0,9	435.600

\*Patel (1993)

Di Indonesia, daerah produsen kacang tanah terluas adalah Jawa Timur dan Jawa Tengah. Daerah produksi kacang tanah utama di Indonesia dapat dilihat pada Tabel 4. Sedangkan kapasitas produksi kacang tanah di Indonesia dari tahun 1996-2000 dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 4. Daerah produksi kacang tanah utama di Indonesia \*)

Propinsi	Luas tanaman (ha/th)	Hasil rata-rata (ton/ha)
Sumatera Utara	18.968	1,06
Sumatera Barat	9.923	1,09
Sumatera Selatan	12.315	1,18
Jawa Barat	67.716	0,98
Jawa Tengah	99.379	0,98
DI Yogyakarta	41.125	0,76
Jawa Timur	133.280	0,90
Bali	13.641	0,94
Kalimantan Selatan	11.405	0,88
Sulawesi Selatan	47.164	1,09

\*) Sumarno dan Manwan (1991)

Tabel 5. Produksi kacang tanah dari tahun 1996-2000 \*)

Tahun	Produksi (ton)
1996	737.815
1997	688.345
1998	692.357
1999	659.586
2000**	718.049

\*) Sumber : Badan Pusat Statistika, 1996 dan 2000

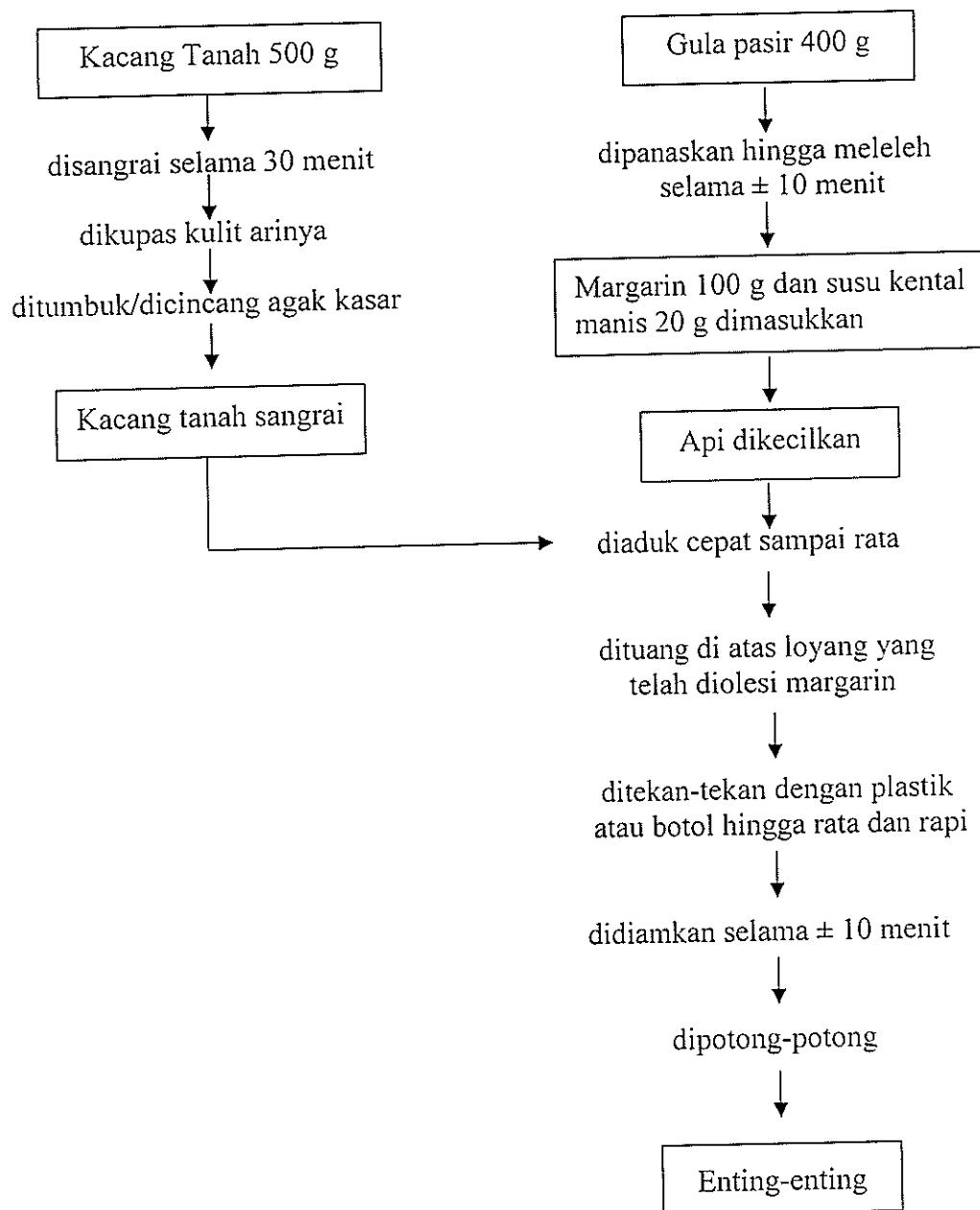
\*\*) Sasaran pendahuluan

## B. PROSES PEMBUATAN ENTING-ENTING

Kacang tanah merupakan sumber minyak nabati, tetapi di Amerika Serikat lebih banyak digunakan sebagai sumber bahan pangan yang dikonsumsi secara langsung. Tiga produk pangan utama yang menggunakan kacang tanah sebagai bahan baku, adalah *peanut butter* (55-57%), *salted peanut* (23%), *peanut candies* (20-22%), dan produk lainnya adalah es krim, kacang garing, kacang rebus, dan sebagainya (Considine dan Considine, 1982).

Kacang-kacangan dan produk lainnya selama proses penyimpanan, terutama jika kandungan air bahan yang berupa biji-bijian tersebut cukup tinggi sangat cepat ditumbuhkapang *Aspergillus*. Pertumbuhannya dapat terjadi pada kelembaban relatif antara 65% hingga 70% sedangkan bila kelembaban relatif mencapai 85% pertumbuhan menjadi sangat cepat (Willy dan Morehouse, 1978).

Di Indonesia banyak produk makanan yang berbahan baku kacang tanah seperti bumbu kacang tanah (gado-gado), kacang asin, kacang kulit, selai kacang tanah, minyak kacang tanah, *snack* gula kacang (enting-enting gepuk, enting-enting, ampyang), dan lain-lain. Makanan tradisional Indonesia yang berbasis kacang tanah seperti *snack* gula kacang banyak terdapat di masyarakat sebagai makanan jajanan dan oleh-oleh, misalkan di daerah Surakarta, Semarang, dan Salatiga. Makanan ini dibuat dengan campuran antara kacang tanah utuh maupun hasil hancuran dengan gula, baik dengan menggunakan gula pasir maupun gula jawa. Diagram alir proses pembuatan enting-enting kacang tanah terdapat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan enting-enting

### C. BAKTERI ASAM LAKTAT

Menurut Stamer (1979) BAL tidak motil atau sedikit motil. mikroaerofilik sampai anaerob, kebutuhan nutrisi kemoorganotrofik dan kompleks serta kebutuhan akan suhu mesofilik. Bakteri ini bersifat katalase negatif walaupun beberapa spesies menunjukkan reaksi positif dibawah kondisi pertumbuhan tertentu (Fardiaz, 1989). Menurut Pot et al. (1994). bakteri asam laktat bersifat gram positif, tidak membentuk spora dan dapat berbentuk koki, kokobasili, atau batang dan mempunyai komposisi DNA kurang dari 50% G + C. Bakteri asam laktat menurut Anonim (1989) adalah sebutan umum untuk bakteri yang memfermentasi gula seperti laktosa atau glukosa yang menghasilkan sejumlah besar asam laktat. Bakteri asam berbentuk batang atau kokus, tidak membentuk spora, ada yang berbentuk rantai atau tunggal.

Bakteri asam laktat terutama dari genus *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* telah digunakan secara tradisional sebagai kultur-kultur starter untuk fermentasi makanan dan minuman karena kontribusinya terhadap pembentukan cita rasa dan aroma serta penghambatan kerusakan (Jenie, 1996).

Bakteri asam laktat dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan jalur penggunaan glukosa, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Kelompok homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari fermentasi glukosa. Sedangkan kelompok heterofermentatif menghasilkan senyawa-senyawa lain disamping asam laktat seperti CO<sub>2</sub> dan etanol dalam jumlah yang hampir sama, serta asam asetat (Hadi dan Fardiaz, 1990).

Bakteri asam laktat mempunyai sifat dapat menghambat mikroorganisme lain dan hal ini merupakan basis dari kemampuannya untuk memperbaiki kualitas dan keamanan dari berbagai jenis pangan. Faktor-faktor penghambatnya yaitu pH yang rendah, asam organik, bakteriosin, hidrogen peroksida, etanol dan potensial redoks yang rendah. Faktor yang paling penting yaitu produksi asam laktat dan asetat serta penurunan nilai pH (Adam dan Moss, 1995).

Pengendalian biologis yang paling banyak diterapkan adalah menambahkan senyawa yang dapat mengikat molekul mikotoksin pada pakan sehingga mikotoksin tidak dapat diabsorbsi tubuh. Senyawa-senyawa yang dapat berperan sebagai pengikat mikotoksin antara lain adalah; arang aktif ("activated charcoal"), natrium bentonit, zeolit, aluminosilikat, gamma amino butiric acid (GABA), kultur ragi ("yeast cell wall"), dan *Saccharomyces cerevisiae* (Mobiuddin, 2000).

Penggunaan *S. cerevisiae* telah dibuktikan efektif dalam mengurangi efek negatif aflatoksin pada ayam (Stanley et al., 1993). Demikian pula kultur ragi ("yeast sacc") dan "yeast cell wall" (Bio-Mos) dapat menekan aflatoksin sehingga mengurangi efek negatifnya pada unggas, bahkan menurut Devegowda et al. (1994), senyawa AFB<sub>1</sub> dapat dihambat (dirusak) sampai 88% pada uji "in vitro".

Bakteri asam laktat (*Lactobacillus rhamnosus* GG dan *L. rhamnosus* LC-705) juga dapat mengikat senyawa AFB<sub>1</sub> (El-Nezami et al., 1998) di dalam saluran pencernaan sehingga menghambat absorpsi AFB<sub>1</sub> ke dalam tubuh dan selanjutnya AFB<sub>1</sub> diekskresikan bersama bakteri tersebut ke luar tubuh (Kankaanpaa et al., 2000). Bakteri lain yang dapat mengikat AFB<sub>1</sub> secara "in vitro" adalah *Bifidobacteria* (Oatley et al., 2000).

#### D. AKTIVITAS ANTIMIKOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT

BAL memiliki potensi antimikotik. *L. lactis* subsp *lactis* dapat menghambat pertumbuhan kapang dan produksi aflatoksin oleh *A. parasiticus*. Pertumbuhan kapang dihambat ketika spora kapang ditambahkan pada kultur *L. lactis* yang berumur tiga hari. Penghambatan tersebut diduga disebabkan oleh produksi asam laktat (Wiseman dan Marth, 1981).

Pertumbuhan *A. parasiticus* dapat dihambat oleh *Lactobacillus casei* yang berumur tiga hari (El Gendy dan Marth, 1981). BAL memiliki aktivitas antibakteri berupa produksi asam laktat, asam asetat, asam format, asam lemak bebas, amonia, etanol, hidrogen peroksida, diasetil, asetoin, 2,3-butanadiol, asetaldehida, benzoat, enzim bakteriolitik, bakteriosin,

antibiotik dan beberapa senyawa penghambat lain yang belum ditetapkan atau diidentifikasi sama sekali (Vandenbergh, 1993). Diasetil dapat menghambat baik mikroba patogen maupun pembusuk dan paling efektif terhadap bakteri gram negatif (Gilliland, 1986).

Suhu inkubasi yang optimal untuk *L. acidophilus* agar memproduksi senyawa antimikotik adalah 30°C selama 48 jam. Perpanjangan waktu inkubasi dapat menurunkan aktivitas antimikotik yang disebabkan degradasi enzimatik senyawa antimikotik (Batish et al., 1990). Hasil penelitian dari Karunaratne et al. (1990) menunjukkan bahwa isolate bakteri asam laktat dari silase komersial yaitu *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. plantarum* dapat menghambat *A. flavus* dan produksi aflatoksin. Sel *Lactobacillus* menghambat pertumbuhan kapang karena adanya kompetisi mikroba dan pH yang rendah. Terbentuknya asam laktat dan asam organik oleh bakteri asam laktat menyebabkan penurunan pH. Akibatnya mikroba yang tidak tahan terhadap kondisi pH yang relatif rendah akan terhambat (Fardiaz, 1992). Jenie (1996) menyatakan akumulasi produk akhir asam yang rendah pH-nya menghasilkan penghambatan yang luas terhadap gram positif maupun gram negatif.

Efek penghambatan dari asam organik terutama dari sejumlah asam yang tidak terdisodiasi. Asam lipofilik seperti asam laktat dan asam asetat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus sel mikroba. Pada pH intraseluler yang lebih tinggi asam tersebut berdisosiasi untuk menghasilkan ion-ion hidrogen dan mengganggu fungsi metabolismik (Baird-Parker, 1980 diacu dalam Jenie, 1996).

Dalam penelitian lainnya Batish et al. (1991) menemukan bahwa *S. lactis* subsp. *lactis* DRC1 yang diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam sampai dengan 72 jam paling berperan dalam menghambat *A. fumigatus*. Senyawa antimikotik yang ditemukan adalah polipeptida alami yang diinaktivasi oleh pronase E dan tripsin (Batish et al., 1991).

*L. plantarum* dan galur *P. pentosaceus* ditemukan dapat menghambat *Fusarium* sp. Senyawa penghambatnya mengandung gugus amino, mempunyai struktur cincin aromatik dan mempunyai berat molekul 100-400 (Niku-Paavola dan Haikara, 1992 dalam De Vyust dan Vandamme, 1994).

Penelitian Lavermicocca et al. (2000), menghasilkan komponen antikapang yang merupakan hasil metabolit fenilalanin yaitu asam fenillaktat dan asam 4-hidroksi-fenillaktat yang dihasilkan oleh *L. plantarum* 21B. Asam fenillaktat dapat menghambat kapang *Eurotium repens* IBT18000, *E. rubrum* FTDC3228, *P. expansum* IDM/FS2, *A. niger* FTDC3227 dan IDM1, *A. flavus* FTDC3226, *M. sitophila* IDM/FS5 dan *Fusarium graminearum* IDM623. pengaruh fungistatik menurut Lavermicocca (2000) berhubungan dengan produksi asam laktat dan asam asetat oleh bakteri asam laktat.

Corsetti et al. (1998) dalam penelitiannya menyatakan bahwa *L. sanfrancisco* CB1 dapat menghasilkan campuran berbagai asam seperti asam asetat, kaproat, format, propionate, butirat dan n-valerat yang secara sinergis mempunyai aktivitas antikapang. Campuran senyawa ini dapat menghambat kapang *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* dan *Monilia*.

Niku-Paavola et al. (1999) menyebutkan bahwa senyawa asam benzoat, 5-metil-2,4-imidazolidinedione, tetrahidro-4-hidroksi-4-metil-2H-piran-2-one dan 3-(2-metilpropil)-2,5-piperazinedione dapat menghambat *F. avenaceum*. Menurut Roy et al. (1996). adanya protein seperti perlakuan enzimatik dengan penambahan kimotripsi, tripsin dan pronase E pada supernatan dapat menghilangkan aktivitas antikapang. Mikrogard yang dihasilkan oleh BAL pada beberapa fermentasi susu ditemukan dapat menghambat pertumbuhan *Penicillium expansum* (Al Zoreky et al., 1991).

Coallier-Ascah dan Isziak (1985) mempelajari efek interaksi antara *Lactococcus lactis* dan *A. flavus* dalam memproduksi aflatoksin. Kedua organisme tersebut dicampurkan dalam media *Lablemco Tryptone Broth* (LTB) dan ditemukan sedikit atau tidak ada aflatoksin pada media. Penambahan glukosa tidak dapat meningkatkan produksi aflatoksin sedangkan penurunan pH juga tidak berpengaruh terhadap produksi aflatoksin.

*Reuterin* yang dihasilkan oleh *L. reuteri* merupakan zat antimikroba yang menghambat bakteri gram negatif (*Salmonella* dan *Shigella*), gram positif (*Clostridium*, *Staphylococcus* dan *Listeria*), fungi dan protozoa (De Vuyst dan Vandamme, 1994).

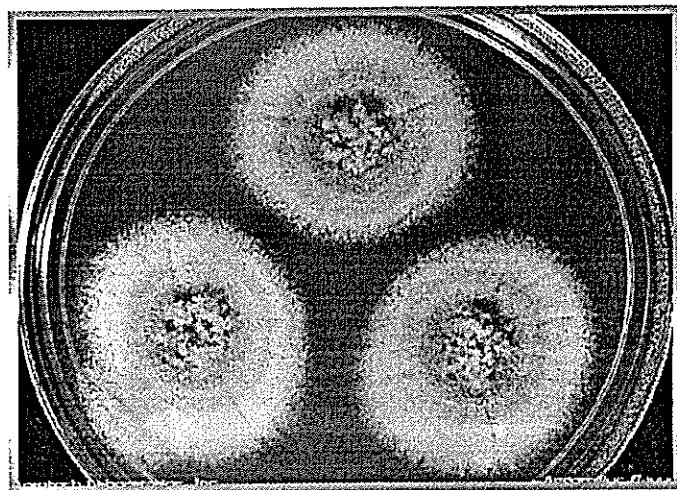
Hidrogen peroksid yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat melalui jalur transport elektron melalui enzim flavin dapat bekerja sebagai inhibitor karena terlebih dahulu bereaksi dengan komponen tertentu yang ada dalam bahan, kemudian kompleks antara  $\text{H}_2\text{O}_2$  dengan komponen bahan tersebut dapat berperan sebagai komponen penghambat (Gilliland, 1986).

#### E. KAPANG *Aspergillus flavus*

Kapang terdiri dari thallus yang tersusun dari filamen yang bercabang yang disebut hifa. Kumpulan dari hifa disebut miselium. Hifa tumbuh dari spora yang melakukan germinasi membentuk suatu tuba germ. dimana tuba ini akan tumbuh terus membentuk filamen yang panjang dan bercabang yang disebut hifa, kemudian seterusnya akan membentuk suatu massa hifa yang disebut miselium (Fardiaz, 1992).

Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan kapang adalah (1) aktivitas air ( $a_w$ ) yaitu jumlah air bebas yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme, (2) konsentrasi ion hidrogen, (3) suhu, (4) konsentrasi cair atau padat, (5) status nutrisi, dan (6) adanya bahan pengawet (Pitt dan Hocking, 1991).

*A. flavus* terdapat dimana-mana, baik di udara, air, tanah dan tumbuh pada bahan pangan maupun pakan seperti jagung, beras, kacang tanah (Moreau dan Moss, 1979). Spesies *Aspergillus* sangat cepat tumbuh pada biji-bijian. Kacang-kacangan dan produk lainnya selama proses penyimpanan, terutama jika kandungan air bahan makanan cukup tinggi. Pertumbuhannya dapat terjadi pada kelembaban relatif antara 65 hingga 70% sedangkan bila kelembaban relatif mencapai 85% pertumbuhan menjadi sangat cepat (Willy dan Morehouse, 1978). Bentuk *A. flavus* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *Aspergillus flavus*

Batas pertumbuhan *A. flavus* dan *A. parasiticus* pada kelembaban relatif (RH) 82-85% dan suhu 30-32°C, sedangkan kondisi optimum untuk menghasilkan aflatoksin adalah pada suhu 25-30°C dan RH 85%, pertumbuhan kapang tersebut optimum bila kadar air bahan 15-30% (Indian Council of Agricultural Research, 1978). Menurut Pitt dan Hocking (1997), pH minimal untuk pertumbuhan *A. flavus* adalah 3.4 dan aktivitas air ( $a_w$ ) yaitu 0.78-0.84.

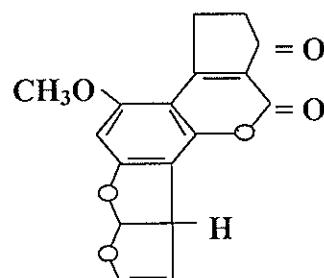
*A. flavus* termasuk kapang septat dan tidak berspora seksual, digolongkan pada kelas fungi *imperfecti*. *Aspergillus* tergolong ordo Moniales dimana kanidiofora muncul dari miselium secara tidak beraturan. Dengan ciri-ciri miselium yang jernih, tidak berwarna pucat/bening, kapang ini termasuk famili Moniliaceae (Raper dan Fennell, 1977).

*A. flavus* mempunyai koloni berwarna bening kehijauan. Konidianya membentuk rantai pada ujung kanidiofora yang membesar pada ujungnya, sterigmata pada ujung kanidiofora relatif pendek dan banyak. Beberapa jenis *Aspergillus sp* mempunyai dua jenis sterigmata, yaitu tunggal dan majemuk. Kadang-kadang kedua sterigmata ini terdapat pada *A. flavus* (Alexopoulos dan Mims, 1973).

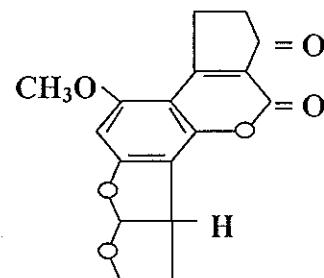
## F. AFLATOKSIN

Aflatoksin diproduksi oleh kapang *A. flavus*, *A. fumigatus*, dan *A. parasiticus* yang dapat tumbuh pada bahan pangan maupun pakan seperti kacang-kacangan, bungkil-bungkilan, dan pakan berbentuk tepung (Giambrone et al., 1985). Aflatoksin dapat diproduksi oleh *A. flavus* pada suhu 7.5-40°C dengan suhu optimum 24-28°C.

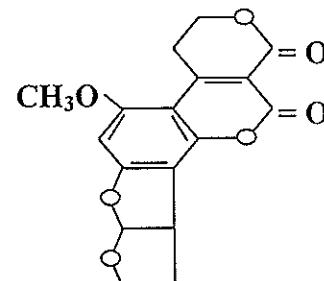
Secara alami, aflatoksin terdiri dari 4 komponen induk yaitu aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), aflatoksin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>), aflatoksin G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) dan aflatoksin G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>) (Gambar 3). Rumus umum AFB<sub>1</sub> adalah C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> dan AFG<sub>1</sub> adalah C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>. AFB<sub>2</sub> merupakan turunan dari AFB<sub>1</sub> dan AFG<sub>1</sub>. Terdapat juga aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) dan aflatoksin M<sub>2</sub> (AFM<sub>2</sub>) yang merupakan hasil metabolisme AFB<sub>1</sub> dan AFB<sub>2</sub> dalam tubuh yang diekskresikan ke dalam susu, urine, dan feces (Makfoeld, 1993). Diantara semua aflatoksin, aflatoksin B<sub>1</sub> adalah yang paling berbahaya dan paling banyak terdapat di alam (Banwart, 1979 di dalam Makfoeld, 1993).



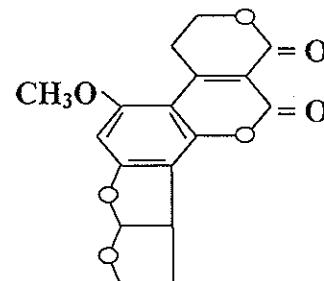
Aflatoksin B<sub>1</sub>



Aflatoksin B<sub>2</sub>



Aflatoksin G<sub>1</sub>



Aflatoksin G<sub>2</sub>

Gambar 3. Struktur kimia aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, dan G<sub>2</sub> (Makfoeld, 1993)

Aflatoksin dapat menyebabkan toksigenik (menimbulkan keracunan), mutagenik (menimbulkan mutagen), teratogenik (menimbulkan penghambatan pada pertumbuhan janin) dan karsinogenik (menimbulkan kanker pada jaringan). Aflatoksin akan sangat berpengaruh pada perkembangan mikroba, kultur jaringan, tumbuhan dan hewan. Pengaruh tersebut dapat berakibat akut atau kronis, tergantung pada dosis dan frekuensi pemberian aflatoksin (Makfoeld, 1993).

Batas toleransi kontaminasi aflatoksin dalam bahan pangan dan pakan untuk setiap negara adalah berbeda-beda. Seperti diketahui, rekomendasi dari World Health Organization (WHO)/Food Agricultural Organization (FAO) jumlah aflatoksin total ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$ , dan  $G_2$ ) adalah 30 ppb (Winarno, 1997). Aflatoksin bersifat sangat stabil, dengan beberapa cara perlakuan tidak sepenuhnya mengurangi toksitasnya. Jalan paling baik untuk menghindari aflatoksin adalah mencegah aflatoksin dalam bahan pangan dengan menghambat atau mencegah fungi penghasil aflatoksin.

Usaha pencegahan yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut: menghindari pertumbuhan mikroba pada bahan pangan (seperti yang umum dilakukan pada mikroba), antara lain dengan menurunkan kelembaban hingga di bawah 80% sehingga didapat  $a_w$  sekitar 0.65-0.70 dimana kapang akan terhambat pertumbuhannya (Frazier dan Westhoff, 1981). Perlu diketahui bahwa aflatoksin merupakan mikotoksin yang stabil terhadap pemanasan. Pada suhu pemanasan normal (sekitar 100°C) aflatoksin tidak dapat berubah (Banwart, 1979 di dalam Makfoeld, 1993). Pemanasan bertekanan (autoklaf) pada suhu 120°C bertekanan 15 lbs, selama 4 hari pada tepung kacang tanah dengan kelembaban 60% akan menurunkan kadar aflatoksin dari 7000 µg/kg menjadi 340 µg/kg.

Penghambatan pertumbuhan kapang dan mengurangi toksitas aflatoksin menggunakan mikroba juga dapat dimungkinkan *A. niger* dapat mendegradasi aflatoksin  $B_1$  menjadi aflatoksin  $B_0$  yang toksitasnya lebih rendah (Banwart, 1979 di dalam Makfoeld, 1993). Penggunaan BAL juga dapat menghambat pertumbuhan kapang.

### III. BAHAN DAN METODE

#### A. BAHAN DAN ALAT

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian adalah kacang tanah mentah diperoleh dari pasar tradisional di Bogor, dan *snack* gula kacang tanah yang berupa enting-enting gepuk, enting-enting, dan ampyang yang diperoleh masing-masing dari tiga lokasi toko yang berbeda dengan merek yang sama.

Kultur bakteri asam laktat yang digunakan adalah *L. plantarum* kik dari isolat kecap ikan hasil isolasi tim peneliti RUT (Jenie et al., 1995) di 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 yang digunakan adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA : Merck), *Acidified Potato Dextrose Agar* (PDA : Merck + Asam tartarat 10%), *deMan Rogosa Sharpe Broth* (MRSB : Oxoid), *deMan Rogosa Sharpe Agar* (MRSA : Oxoid + Bacto agar 2%), dan susu skim 10%.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah NaCl 0.85%, alkohol, gliserol steril 10%, buffer pH 7, buffer pH 4, akuades, asetonitril, KCl 4%. HCl 0.5 M, n-heksana, diklorometan, natrium sulfat anhidrat, kloroform, asam trifluoroasetat, metanol, dan asam asetat.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, inkubator, pH meter, oven,  $a_w$  meter, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), mikroskop, *rotary evaporator*, neraca analitik, refrigerator, vorteks, desikator, pengaduk magnet, gelas obyek *Petroff-Hausser*, corong, labu pemisah, cawan aluminium, kertas saring, *styrofoam*, plastik, cawan porselin, dan alat-alat gelas.

## **B. TEMPAT**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Kimia Pangan Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, Laboratorium Mikrobiologi Pangan, dan Laboratorium Kimia Pangan Pusat Antar Studi (PAU) Pangan dan Gizi IPB, dan analisa aflatoksin di Balai Penelitian Veteriner Bogor.

## **C. METODE**

Penelitian ini dibagi dalam 3 tahap, yaitu (1) Analisa kimia dan populasi mikroba produk kacang tanah bergula (enting-enting, ampyang, enting-enting gepuk), masing-masing dua bungkus dari tiga lokasi toko yang berbeda dengan nama dagang yang sama, (2) Penentuan volume dan waktu perendaman kacang tanah kultur *Lactobacillus plantarum* kik untuk mereduksi *A. flavus*, (3) Kombinasi perendaman dalam suspensi BAL dan penyangraian kacang tanah terhadap pertumbuhan *A. flavus* dan kandungan aflatoksin pada pengolahan enting-enting.

### **1. Persiapan Sampel**

Sampel untuk penelitian tahap pertama yaitu enting-enting, ampyang, dan enting-enting gepuk diperoleh dari toko swalayan dan pasar tradisional Bogor. Sampel diperoleh dari tiga lokasi toko yang berbeda dengan nama dagang yang sama. Jumlah sampel yang diambil sebanyak 2 sampel dari masing-masing toko. Masing-masing sampel tersebut dicampur secara homogen dan aseptik ke dalam plastik steril, kemudian diambil secara acak untuk dicampur dan kembali diambil secara acak untuk berbagai analisa. Sampel untuk penelitian tahap dua, dan tahap tiga adalah kacang tanah mentah yang masih memiliki kulit ari yang masing-masing diperoleh dari 3 lokasi pasar tradisional di Bogor sebanyak 2 kg tiap lokasi dan dimasukkan ke dalam satu tempat dan dicampur.

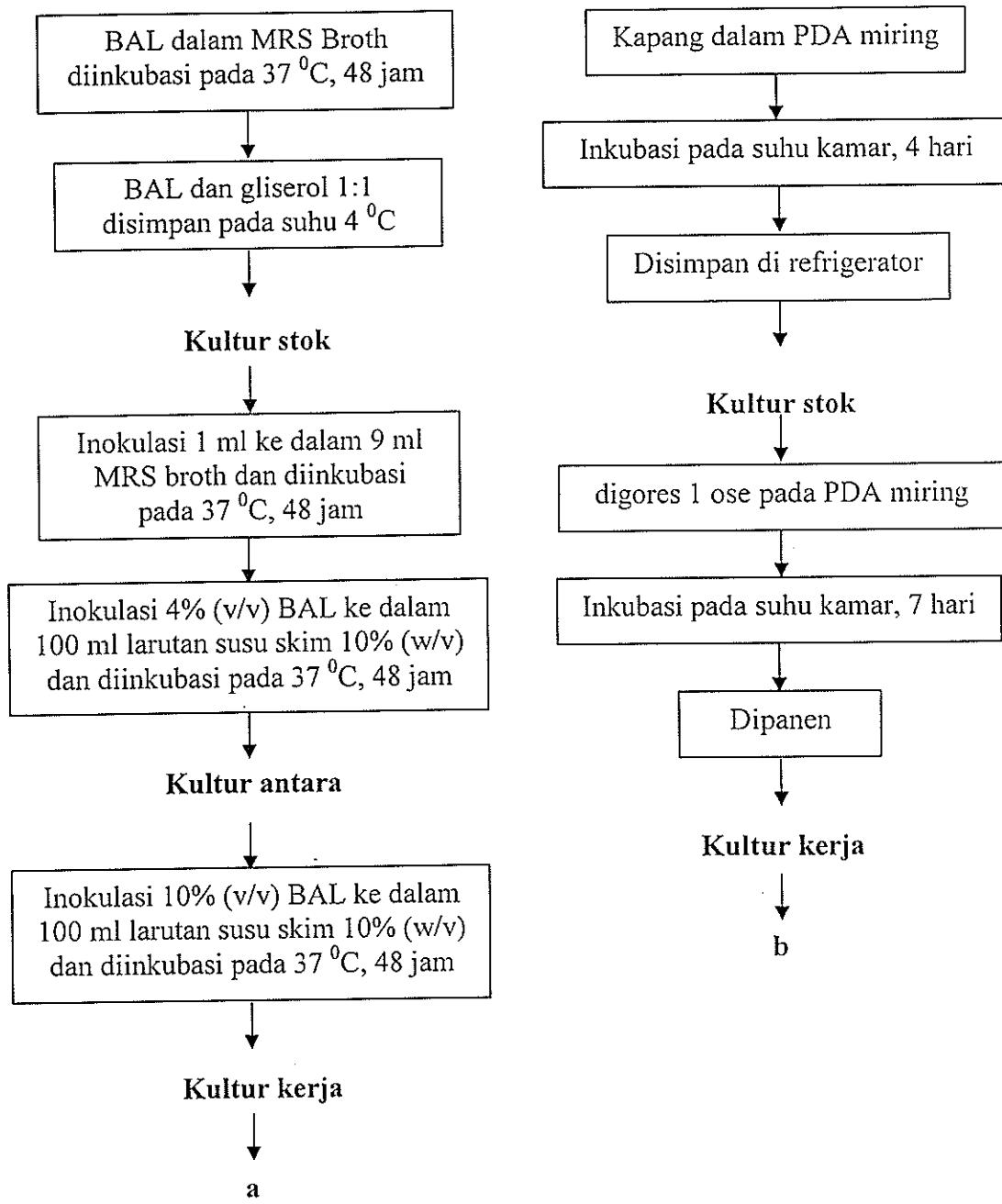
## **2. Persiapan Kultur**

### a. Persiapan kultur bakteri asam laktat (Jenie et al., 2000)

Bakteri asam laktat ditumbuhkan dalam MRS broth selama 48 jam. Untuk kultur kerja, sebanyak 1 ml kultur bakteri diinokulasikan ke dalam 9 ml MRS broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Selanjutnya sebanyak 4% (v/v) kultur BAL tersebut diinokulasikan ke dalam media skim modifikasi (larutan 10% susu skim), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Biakan ini disebut kultur antara yang selanjutnya digunakan untuk membuat kultur kerja. Kultur kerja dibuat dengan menginokulasikan sebanyak 10% (v/v) kultur antara ke dalam larutan skim 10% (b/v) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Jumlah koloni bakteri asam laktat dihitung dengan menggunakan metode tuang atau *pour plate count* dengan media MRS agar (Gambar 4).

### b. Persiapan spora kapang *A. flavus* (Fardiaz, 1989)

*Aspergillus flavus* ditumbuhkan pada PDA miring selama 4 hari dan disimpan di dalam refrigerator untuk kultur stok. Untuk kultur kerja sebanyak 1 “ose” ( $\pm 0.1$  ml) spora kapang digores pada PDA miring kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari. Spora kapang diambil dan dimasukkan kedalam larutan 0.85% NaCl. Pengambilan spora kapang dilakukan dengan bantuan jarum ose steril, kemudian jumlah spora kapang dihitung menggunakan metode *Petroff-Hauser* (Gambar 4).



Gambar 4. Diagram alir persiapan kultur (a) bakteri asam laktat, (b) kapang

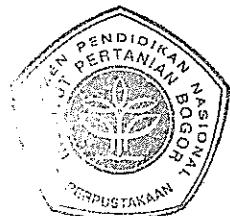
### **3. Analisa Kimia dan Populasi Mikroba Beberapa Produk Kacang Tanah**

Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 100 g dimasukkan secara aseptik kedalam plastik steril dan ditambahkan larutan pengencer steril (NaCl 0.85%) dengan volume 200 ml. Sampel kemudian dihancurkan dengan menggunakan *stomacher* selama 1 x 2 menit. Selanjutnya dilakukan pengenceran (1:3, 1:30, 1:300, 1:3000) untuk dianalisa jumlah total kapang dengan menggunakan metode *plate count* dengan media PDA. Kapang yang tumbuh tersebut diisolasi dengan metode gores cawan. Kapang yang telah dipisahkan membentuk koloni terpisah masing-masing diidentifikasi dengan menggunakan *slide culture*, dan hasil pengamatan dicocokkan dengan kunci identifikasi kapang. Sedangkan sisa sampel digunakan untuk analisa kadar air,  $a_w$ , dan pH.

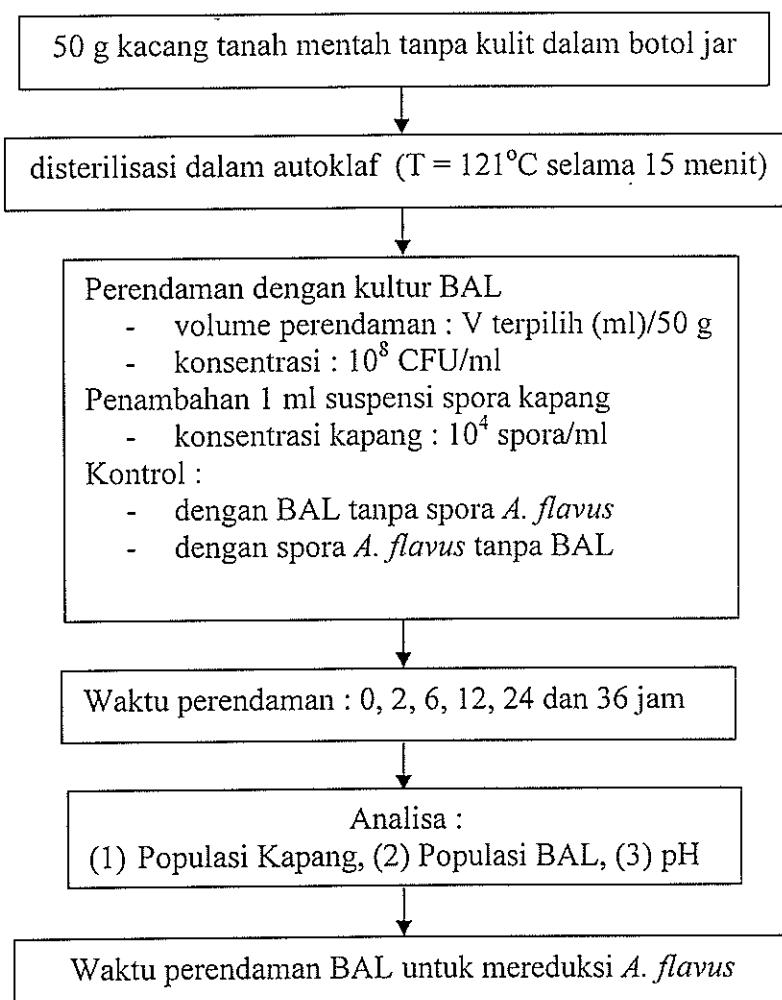
### **4. Penentuan Volume dan Waktu Perendaman Kacang Tanah Kultur *Lactobacillus plantarum* kik**

Metode penentuan volume BAL untuk perendaman kacang tanah didasarkan pada pengamatan visual dilihat volume larutan susu skim yang masih dapat merendam kacang tanah selama 36 jam yaitu dengan cara sebanyak 50 g kacang tanah dimasukkan kedalam gelas jar dan direndam dengan larutan susu skim 10% sebanyak 50 ml (1:1), 100 ml (1:2), dan 150 ml (1:3). Volume BAL yang masih dapat merendam kacang tanah sebanyak 50 g selama 36 jam ditentukan sebagai volume BAL untuk perendaman.

Metode yang digunakan untuk menentukan waktu perendaman dengan suspensi BAL (pengujian antimikotik) terhadap pertumbuhan *A. flavus* pada kacang tanah adalah metode *challenge test*. Metode ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh antara kedua mikroorganisme yang akan diujikan dengan cara mencampurkannya. Kacang tanah diambil secara acak dan ditimbang masing-masing 50 g dan dimasukkan ke dalam 18 gelas jar. Kacang tanah ini disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian untuk 6 gelas jar masing-masing direndam dengan



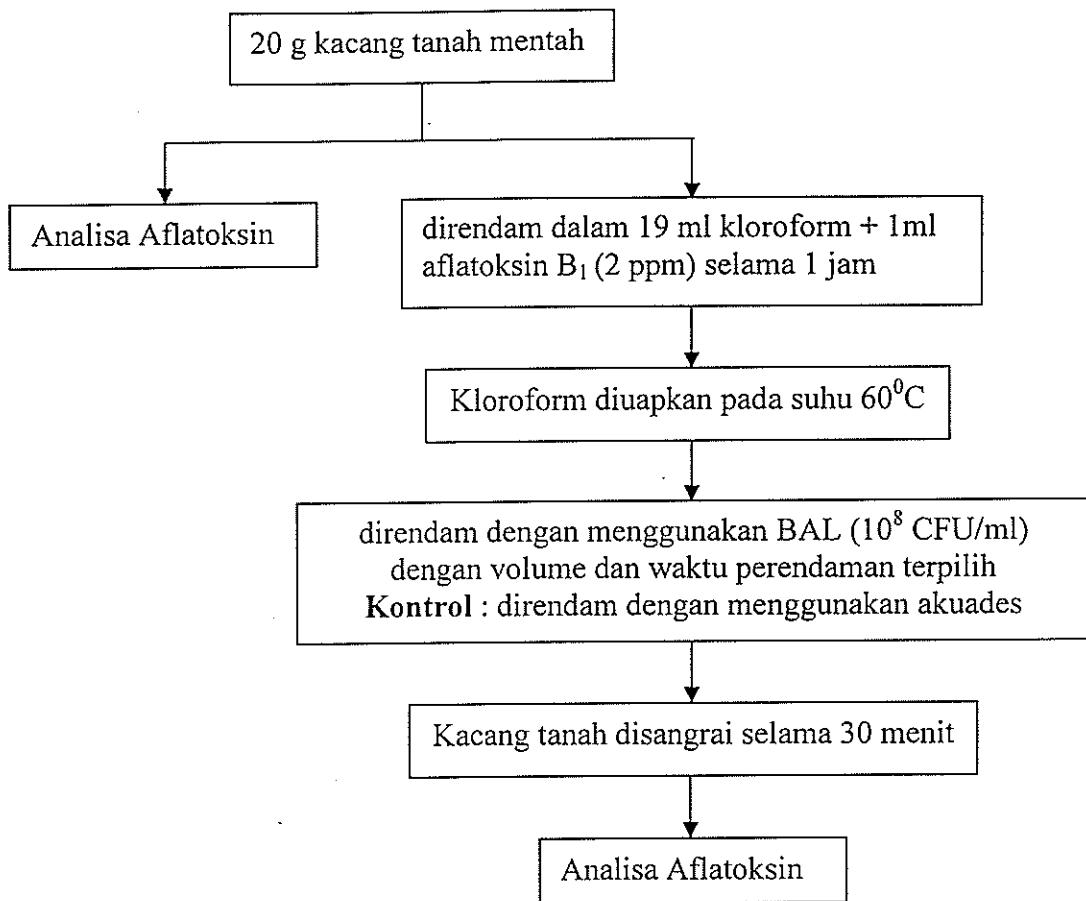
larutan susu skim steril (10%) dan ditambahkan spora kapang *A. flavus* sehingga konsentrasinya  $10^4$  spora/ml sebagai kontrol kapang, 6 gelas jar masing-masing ditambahkan suspensi BAL dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/ml dalam larutan susu skim (10%) sebagai kontrol BAL, dan 6 gelas jar sisanya masing-masing ditambahkan suspensi BAL konsentrasi  $10^8$  CFU/ml dan spora kapang *A. flavus* konsentrasi  $10^4$  spora/ml sebagai sampel. Waktu perendaman yang digunakan adalah 0, 2, 6, 12, 24, dan 36 jam. Untuk penghitungan populasi kapang dilakukan pengenceran 1:10, 1:100, dan 1:1000, sedangkan untuk penentuan populasi BAL dilakukan pengenceran  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ , dan  $10^{-8}$ . Waktu perendaman ditentukan berdasarkan penurunan populasi *A. flavus* oleh BAL (Gambar 5).



Gambar 5. Diagram alir penentuan waktu perendaman BAL untuk mereduksi *A. flavus*

## **5. Pengaruh Kombinasi Penambahan BAL dan Penyangraian Kacang Tanah terhadap Kandungan Aflatoksin**

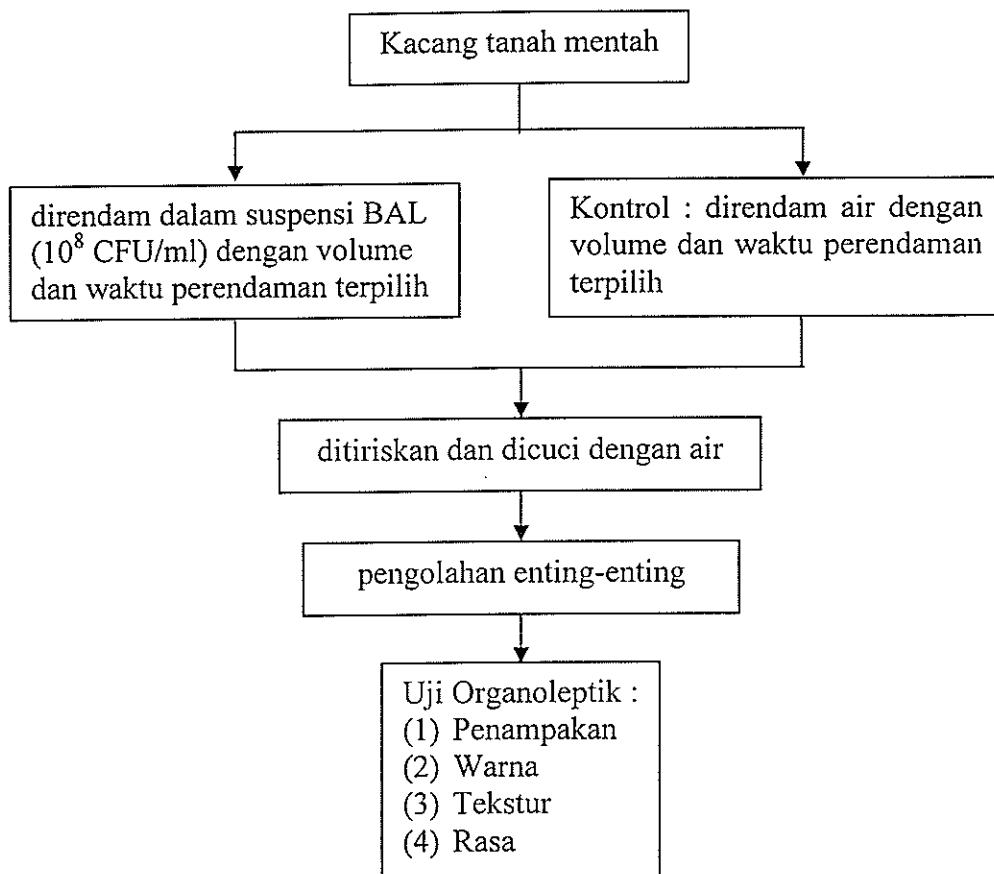
Kacang tanah mentah diambil secara acak dan ditimbang sebanyak 120 g, kemudian dibagi menjadi 6 bagian (2 bagian untuk kacang tanah mentah awal, 2 bagian untuk kontrol, dan 2 bagian sisa untuk perlakuan). Setelah itu masing-masing bagian kacang tanah dimasukkan kedalam gelas jar, 2 bagian pertama langsung dianalisa kandungan aflatoksinnya, sedangkan 4 bagian sisa masing-masing dilakukan perendaman dengan 19 ml kloroform dan 1 ml aflatoksin B<sub>1</sub> selama 1 jam, kemudian kloroform diuapkan dengan *Hot plate* pada suhu 60°C. Setelah itu 2 bagian dari 4 bagian ini direndam dengan menggunakan akuades dengan volume dan waktu perendaman terpilih sebagai kontrol, dan 2 bagian sisanya dilakukan perendaman dengan menggunakan suspensi BAL dalam larutan susu skim 10% dengan volume dan waktu perendaman terpilih. Kemudian 4 bagian ini disangrai selama masing-masing 30 menit. Setelah itu dilakukan analisa kandungan aflatoksin dengan metode HPLC. Diagram alir penentuan potensi antiaflatoksignik BAL dalam mereduksi aflatoksin dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram alir pengaruh kombinasi penambahan BAL dan penyangraian kacang tanah terhadap kandungan aflatoksin

## 6. Evaluasi Organoleptik Enting-enting dengan Penambahan BAL

Kacang tanah ditimbang masing-masing 250 g sebanyak 4 bagian, 2 bagian direndam dengan suspensi BAL ( $10^8$  CFU/ml) dalam larutan susu skim 10% dan 2 bagian lainnya direndam dengan akuades steril. Volume dan waktu masing-masing perendaman ditentukan dengan volume dan waktu perendaman terpilih. Setelah direndam kemudian dilanjutkan dengan proses pembuatan enting-enting (Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan enting-enting). Parameter uji organoleptik yang dilakukan adalah penampakan, warna, tekstur, dan rasa, selain itu juga dilakukan pendektsian rasa asam pada enting-enting ini (Gambar 7).



Gambar 7. Evaluasi organoleptik enting-enting dengan penambahan BAL

## D. ANALISA

### 1. Analisa Mikrobiologi

#### a. Perhitungan jumlah sel bakteri asam laktat (Fardiaz, 1992)

Metode ini dapat dilakukan dengan pengenceran pada larutan 0.85% NaCl sampai jumlah sel dapat dihitung dimana jumlah yang terbaik adalah 30 sampai 300 koloni. Pengenceran biasanya dilakukan secara decimal yaitu 1:10; 1:100; 1:1000 dan seterusnya. Cara

pemupukan dalam metode tuang yaitu sebanyak 1 ml contoh yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan ditambahkan MRS agar sebanyak 15-20 ml. Selanjutnya diinkubasi terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam. Jumlah koloni dalam contoh dapat dihitung sebagai berikut :

$$\Sigma \text{ koloni per ml} = \Sigma \text{ koloni per cawan} \times 1/\text{fp}$$

b. Perhitungan jumlah sel kapang (Fardiaz, 1992)

Metode ini pada dasarnya hampir sama dengan perhitungan jumlah sel BAL yaitu dengan pengenceran pada larutan 0.85% NaCl sampai jumlah sel dapat dihitung. Pengenceran dilakukan secara desimal yaitu 1:10; 1:100; 1:1000 dan seterusnya. Sebanyak 1 ml contoh yang telah diencerkan dipipet ke atas permukaan agar cawan (PDA) dan diratakan dengan batang gelas melengkung (*hockey stick*) yang steril. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Pengamatan dilakukan 2-3 hari setelah inkubasi.

c. Perhitungan spora kapang (Fardiaz, 1992)

Dalam metode *Petroff-Hauser*, hitungan mikroskopik dilakukan dengan pertolongan kotak-kotak skala, dimana didalam setiap ukuran skala seluas 1 mm<sup>2</sup> terdapat 25 buah kotak besar dan setiap kotak besar terdiri dari 16 kotak kecil. Tinggi contoh yang terletak diantara gelas obyek dengan gelas penutup adalah 0.02 mm. Jumlah spora dalam beberapa kotak besar dihitung, kemudian dihitung jumlah spora rata-rata dalam 1 kotak besar. Jumlah sel per ml dihitung sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\Sigma \text{ spora per contoh} &= \Sigma \text{ spora per kotak besar} \times 25 \text{ kotak} \times 1/0.02 \times 10^3 \\ &= \Sigma \text{ spora per kotak besar} \times 1.25 \times 10^6\end{aligned}$$

d. Pemeriksaan jenis kapang “Slide Culture” (Fardiaz, 1989)

Bagian bawah cawan petri diberi kertas saring sehingga menutupi alas bagian dalam cawan, diletakkan batang gelas berbentuk U atau V, kemudian diletakkan gelas obyek di atasnya berdampingan dengan gelas penutup, dan disterilkan di dalam autoklaf. Setelah dingin, di atas gelas obyek diberi setetes medium steril yang telah dicairkan yaitu *Potato Dextrose Agar*. Ratakan dengan jarum Ose steril sehingga membentuk lapisan tipis dengan luas tidak melebihi luas gelas penutup, dan biarkan membeku di dalam cawan tertutup. Setelah membeku, inokulasikan sedikit spora kapang pada permukaan agar menggunakan ujung jarum Ose, dan ditutup dengan gelas penutup. Sebanyak 5-7 ml gliserol 10% steril diteteskan ke atas kertas filter untuk memberikan kelembaban yang optimum selama pertumbuhan kapang. Inkubasikan pada suhu kamar selama 3-5 hari, kemudian struktur kapang diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran rendah (400x) dan tinggi (1000x).

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

Cawan kosong bersih dikeringkan pada 100-102 °C sekitar 15 menit didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Sampel sebanyak 5 gram dimasukkan dalam cawan, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100-102 °C selama 6 jam atau sampai berat konstan. Contoh diangkat kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Kadar air sampel dalam berat basah (bb) ditentukan berdasarkan rumus berikut :

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

Dimana : a = bobot awal sampel (g)

b = bobot akhir sampel setelah dikeringkan (g)

### **3. Analisa Aktivitas Air atau $a_w$ (Shibaura $a_w$ Meter WA-360)**

Pengukuran  $a_w$  dilakukan dengan menggunakan "Shibaura Aw Meter WA-360". 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 sampel dimasukkan ke sensor  $a_w$  lalu wadah ditutup. Angka yang terbaca oleh alat menunjukkan  $a_w$  sampel yang diukur.

### **4. Analisa pH (Apriyantono et al., 1989)**

Nilai pH cairan dapat diketahui dengan menggunakan alat pH meter. Sebelum digunakan pH meter dinyalakan terlebih dahulu selama 15-30 menit. Elektroda kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tissue. Selanjutnya pH meter distandarisasi dengan 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 10 g ditimbang, dimasukkan ke dalam plastik dan ditambah 20 ml aquades (1:2), lalu dikocok dengan stomacher selama 3 menit. Elektroda kering dicelupkan ke larutan sampel selama beberapa saat, nilai pH dibaca setelah menunjukkan angka stabil.

### **5. Evaluasi Organoleptik (Rahayu, 1997)**

Pengujian terhadap sampel dilakukan terhadap penampakan, warna, tekstur, dan rasa. Metode yang digunakan adalah uji hedonik dimana panelis diminta untuk menilai sampel terhadap kesukaan dan ketidaksukaannya. Dalam uji ini panelis tidak boleh membanding-bandikan antara sampel satu dengan sampel lainnya yang disajikan. Panelis mengisi lembar penilaian terhadap kesan dari sampel yang disajikan. Penilaian panelis tersebut dikonversikan kedalam skala numerik. Sebaran nilai yang digunakan adalah : 1 = sangat tidak suka,

2 = tidak suka, 3 = agak tidak suka, 4 = netral (biasa), 5 = agak suka, 6 = suka, 7 = sangat suka. Setelah itu hasil penilaian panelis diolah dengan menggunakan analisa *paired sample t-test*. Jumlah panelis yang digunakan pada uji organoleptik ini sebanyak 30 orang panelis.

## 6. Penentuan Kandungan Aflatoksin (SOP Analisa Kimia Balitvet, Bogor)

Biji kacang tanah sebanyak 20 g, dihaluskan dengan menggunakan blender dan diambil 12.5 g. Sampel sebanyak 12.5 g yang telah dihaluskan ditambahkan 45 ml asetonitril, 5 ml KCl 4 %, dan 1 ml HCl 0.5M. Kemudian *dishaker* selama 30 menit, dan disaring dengan kertas saring kasar. Selanjutnya 25 hasil saringan dimasukkan dalam labu pemisah ditambahkan 25 ml akuades, dan diekstrak menggunakan 2 x 25 ml n-heksana kemudian dikocok dalam labu pemisah. Lapisan atas (n-heksana) dibuang. Lapisan bawah dimasukkan kembali dalam labu pemisah dan dikocok dengan 2 x 25 ml diklorometan. Selanjutnya ditampung melalui kertas saring berisi natrium sulfat anhidrat. Setelah itu cairan hasil tampungan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 10 menit dengan suhu 60°C. Ekstrak kering aflatoksin dapat disimpan didalam lemari es sebelum disuntikkan pada alat HPLC.

Sebelum diidentifikasi sampel hasil pengujian dilarutkan kembali dengan menggunakan ml diklorometan dan diambil  $\mu$ L ekstrak untuk diderivatisasi dengan menambahkan  $\mu$ L n-heksana dan  $\mu$ L asam trifluoroasetat kemudian dibiarkan selama 15 menit. Selanjutnya dikeringkan dan dilarutkan kembali dengan  $\mu$ L metanol dan dideteksi dengan HPLC. Kolom yang digunakan dalam alat HPLC ini adalah  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> dengan detektor *fluorescence* ( $\lambda_{ext}$  365 nm dan  $\lambda_{em}$  425 nm). Sedangkan fase gerak yang digunakan adalah H<sub>2</sub>O-metanol-asam asetat (65 : 15 : 20, FR : 1 ml/min).

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. KARAKTERISTIK KIMIA DAN MIKROBIOLOGI BEBERAPA PRODUK ENTING-ENTING

Sifat fisik dan kimia produk kacang tanah bergula seperti enting-enting, ampyang, dan enting-enting gepuk meliputi kadar air, aktivitas air, dan pH. Kadar air enting-enting sebesar 4.07 % lebih tinggi dibanding dengan kedua produk kacang tanah yang lain yaitu pada ampyang sebesar 3.40 % dan enting-enting gepuk sebesar 2.22 %. Kadar air pada kacang goreng sebesar 3.82 %, sedangkan kacang oven mempunyai kadar air yang lebih rendah yaitu 3.33 %, nilai  $a_w$  produk kacang goreng sebesar 0.68 dan 0.65 untuk kacang oven (Dyah, 2003). Sedangkan kadar air kacang panggang 2.75 % yang diperoleh dari toko swalayan lebih rendah daripada kacang rebus (50.51 %) yang diperoleh dari pasar tradisional, tingginya kadar air pada kacang rebus disebabkan tidak adanya tahap pengeringan pada proses pembuatannya seperti halnya pada kacang panggang. Begitu juga  $a_w$  kacang panggang 0.59 lebih rendah daripada kacang rebus (0.94) (Ningrum, 2003). Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba adalah kadar air, suhu, kelembaban relatif (RH), aktivitas air ( $a_w$ ), nilai pH, kondisi atmosfer, kebutuhan zat gizi, dan faktor kimia serta penyinaran (Syarieff dan Halid, 1992).

Tabel 6. Analisa kimia dan mikrobiologi dari beberapa produk kacang tanah

Analisa	Enting-enting	Ampyang	Enting-enting Gepuk
Kadar air (%)	4.07	3.40	2.22
Aktivitas air ( $a_w$ )	0.40	0.59	0.35
pH	5.9	5.5	5.9
Jumlah Kapang (CFU/g)	< 3.0 x 10 <sup>1</sup> (1.9 x 10 <sup>1</sup> )	3.1 x 10 <sup>1</sup>	< 3.0 x 10 <sup>1</sup> (2.2 x 10 <sup>1</sup> )
Jenis kapang :	- <i>Aspergillus flavus</i> - <i>Penicillium</i> sp.	- <i>Aspergillus flavus</i> - <i>Aspergillus niger</i> - <i>Penicillium</i> sp.	- <i>Aspergillus flavus</i> - <i>Penicillium</i> sp.

Air merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas metabolisme seperti aktivitas enzim, aktivitas mikroba, dan aktivitas kimiawi, yaitu terjadinya ketengikan, dan reaksi-reaksi nonenzimatis sehingga menimbulkan perubahan organoleptik, penampakan, tekstur, dan citarasa serta nilai gizinya. Peranan air dalam bahan pangan sendiri dinyatakan sebagai kadar air dan aktivitas air ( $a_w$ ). Aktivitas air adalah jumlah air bebas yang digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhannya (Syarieff dan Halid, 1992). Aktivitas air ( $a_w$ ) tertinggi dari ketiga produk kacang tanah bergula ini ada pada ampyang yaitu sebesar 0.59, sedangkan pada enting-enting dan enting-enting gepuk masing-masing sebesar 0.40 dan 0.35.

Rendahnya kadar air dan aktivitas air pada enting-enting gepuk yaitu berturut-turut sebesar 2.22 % dan 0.35, diduga karena kacang tanah yang digunakan pada pembuatan produk ini berbentuk lebih halus dibandingkan dengan kacang tanah yang digunakan pada produk yang lain, sehingga dengan bentuk kacang tanah yang lebih halus inilah menyebabkan permukaan bahan menjadi lebih luas dan dapat menerima proses pengeringan dengan lebih baik pada proses pembuatan enting-enting gepuk yaitu pada tahap penyangraian.

Kandungan air dalam bahan makanan mempengaruhi daya tahan bahan makanan terhadap serangan mikroorganisme yang dinyatakan dengan  $a_w$ . Berbagai mikroorganisme mempunyai  $a_w$  minimum agar dapat tumbuh dengan baik misalnya bakteri  $a_w$ nya 0.90, khamir  $a_w$ nya 0.80-0.90 dan kapang  $a_w$ nya 0.60-0.70. Kapang membutuhkan kadar air yang lebih rendah dan kelembaban yang relatif lebih rendah dibanding mikroorganisme lain. Bijibijian yang disimpan dengan kadar air 13-18% dengan RH 75-85% umumnya dapat ditumbuhi kapang. Pitt dan Hocking (1997) menyatakan bahwa *Aspergillus flavus* dapat tumbuh pada  $a_w$  0.78 – 0.84.

Nilai pH ketiga produk kacang tanah bergula tidak jauh berbeda yaitu untuk enting-enting sebesar 5.9 lebih tinggi dari ampyang yaitu sebesar 5.5 dan lebih rendah dari enting-enting gepuk yaitu sebesar 5.9. Nilai pH suatu larutan menunjukkan konsentrasi ion hidrogen  $[H^+]$  yang terdapat didalamnya (Atlas, 1984). Setiap jenis mikroorganisme memerlukan kondisi pH tertentu untuk pertumbuhannya. Sebagian besar mikroorganisme dapat tumbuh pada

pH 6 – 8, sebagian besar kapang berkembang pada pH 4 – 8. Nilai pH kacang panggang dan kacang rebus masing-masing adalah 6.4 dan 6.2 (Ningrum, 2003). Sedangkan pH pada kacang goreng sebesar 6.1 dan pada kacang oven sebesar 6.3 (Dyah, 2003).

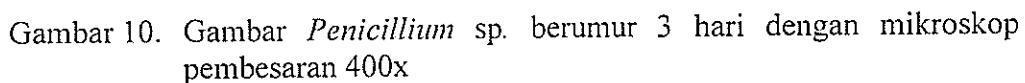
Faktor-faktor yang mempengaruhi dalam pertumbuhan mikroba adalah kadar air, suhu, kelembaban relatif (RH), aktivitas air ( $a_w$ ), nilai pH, kondisi atmosfer, kebutuhan zat gizi dan faktor kimia, serta penyinaran (Syarieff dan Halid, 1992). Didasarkan pada faktor-faktor tersebut maka sifat fisik dan kimia produk yang dianalisa meliputi kadar air, aktivitas air ( $a_w$ ), dan nilai pH, karena faktor ini yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba.

Jumlah populasi total kapang pada enting-enting sebesar  $< 3.0 \times 10^1$  ( $1.9 \times 10^1$ ) CFU/g, untuk ampyang sebesar  $3.1 \times 10^1$  CFU/g, dan  $< 3.0 \times 10^1$  ( $2.2 \times 10^1$ ) CFU/g untuk enting-enting gepuk. Dari hasil populasi total kapang ini dapat dilihat bahwa ketiga produk kacang tanah begula ini mempunyai jumlah populasi yang relatif rendah, hal ini dimungkinkan karena rendahnya  $a_w$ . Jenis kapang yang diisolasi dari enting-enting dan enting-enting gepuk sama setelah diidentifikasi dengan kunci identifikasi kapang yaitu kapang yang ada terlihat *miselium vegetatif* mempunyai banyak dinding penyekat atau *septa*, spora tumbuh pada *konidiofora* dari berbagai bentuk, *hifa* dalam bentuk masa seperti kapas; *konidiofora* tidak bersatu, jelas terpisah, *hifa* dan *konidia* berwarna terang, *konidia* satu sel, *konidiofora* berbeda jelas dari *konidia*, *konidiofora* tidak bercabang, atau membengkak pada ujungnya, *konidia* membentuk rantai, *konidiofora* membesar pada ujungnya, *Sterigmata* relatif pendek dan banyak sehingga dapat disimpulkan jenis kapang yang ada adalah *Aspergillus flavus* (Gambar 8) dan jenis kapang yang lain terlihat mirip dengan *A. flavus* namun *sterigmata* relatif panjang dan lebih sedikit sehingga disimpulkan jenis kapang ini adalah *Penicillium* sp. (Gambar 10), hal ini dimungkinkan karena samanya bahan-bahan utama yang digunakan pada pembuatan kedua produk ini, terutama pada penggunaan gula pasir dan kacang tanah sebagai bahan utama. Sedangkan pada ampyang jenis kapang yang ada lebih beragam yaitu *Aspergillus flavus* (Gambar 8), *Aspergillus niger* (Gambar 9), dan *Penicillium* sp. (Gambar 10). Berdasarkan penelitian

yang dilakukan oleh Lilieanny (2002) kapang yang paling sering terisolasi pada kacang garing adalah *Penicillium citrinum* 33 sampel dari 47 total sampel sebesar 70.21 % dan sekitar 38.30 % sampel kacang garing terserang *A. flavus* dan terkontaminasi aflatoksin sekitar 12.77 % dari 47 total sampel. Sedangkan kapang yang sering mengkontaminasi kacang oven adalah *Aspergillus cladosporioides* sekitar 66.67 % dari total sampel (Lilieanny, 2002).

Gambar 8. Gambar *Aspergillus flavus* berumur 3 hari dengan mikroskop pembesaran 400x

Gambar 9. Gambar *Aspergillus niger* berumur 3 hari dengan mikroskop pembesaran 400x



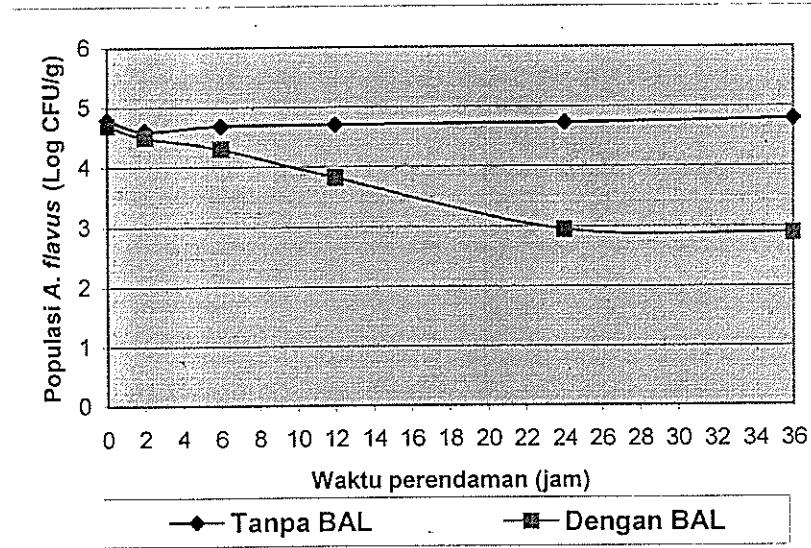
Gambar 10. Gambar *Penicillium* sp. berumur 3 hari dengan mikroskop pembesaran 400x

#### B. PENGARUH WAKTU PERENDAMAN *Lactobacillus plantarum* kik TERHADAP PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus* PADA KACANG TANAH

Perendaman kacang tanah dengan *L. plantarum* kik pada konsentrasi  $10^8$  CFU/ml dengan perbandingan volume kacang tanah dengan suspensi BAL pada larutan susu skim (1 : 2) berpengaruh terhadap pertumbuhan *A. flavus* yang ditambahkan  $10^4$  spora/ml yaitu jumlah *A. flavus* pada biji kacang tanah yang semula 4.70 unit log ( $5.0 \times 10^4$  CFU/ml) pada perendaman 0 jam mengalami penurunan pada perendaman 2 jam, 6 jam, 12 jam yang berturut turut menjadi sebesar 4.50 unit log ( $3.1 \times 10^4$  CFU/ml), 4.30 unit log ( $2.0 \times 10^4$  CFU/ml), dan 3,82 unit log ( $6.7 \times 10^3$  CFU/ml), dan mengalami penurunan 2 satuan log pada perendaman 24 jam yaitu sebesar 2.95 unit log ( $8.9 \times 10^2$  CFU/ml), namun pada perendaman 36 jam penurunan yang terjadi masih sebesar 2 satuan log yaitu sebesar 2.88 unit log ( $7.7 \times 10^2$  CFU/ml). Sedangkan pada kontrol yaitu perendaman dengan penambahan spora *A. flavus*  $10^4$  spora/ml tanpa perendaman suspensi BAL, pertumbuhan *A. flavus* pada biji kacang tanah perendaman 0 jam sebesar

4.80 unit log ( $6.3 \times 10^4$  CFU/ml), dan pada akhir perendaman populasi kapang masih tetap berjumlah 4 satuan log yaitu sebesar 4.80 unit log ( $6.2 \times 10^4$  CFU/ml) (Gambar 11). Hal yang sama terjadi pada penelitian Dyah (2003) menyatakan bahwa pertumbuhan *A. flavus* pada awal perendaman untuk kontrol tanpa BAL sebesar  $3.90 \times 10^3$  CFU/ml, dan pada akhir perendaman populasi kapang masih tetap berjumlah 3 satuan log yaitu sebesar  $7.05 \times 10^3$  CFU/ml.

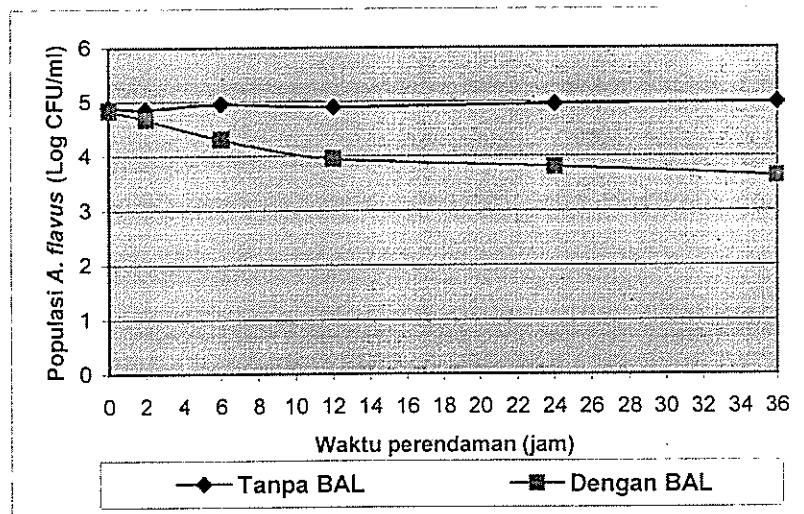
Bakteri asam laktat mempunyai sifat dapat menghambat mikroorganisme lain dan hal ini merupakan basis dari kemampuannya untuk memperbaiki kualitas dan keamanan dari berbagai jenis pangan. Faktor-faktor penghambatnya yaitu pH yang rendah, asam organik, bakteriosin, hidrogen peroksida, etanol dan potensial redoks yang rendah. Faktor yang paling penting yaitu produksi asam laktat dan asetat serta penurunan nilai pH (Adam dan Moss, 1995).



Gambar 11. Pengaruh waktu perendaman biji kacang tanah dalam suspensi *L. plantarum* kik ( $10^8$  CFU/ml) terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus*

Demikian juga dengan pertumbuhan *A. flavus* dalam cairan perendam, terlihat jumlah *A. flavus* dari perendaman 0 jam sebesar 4.85 unit log ( $7.0 \times 10^4$  CFU/ml) terjadi penurunan pada waktu perendaman

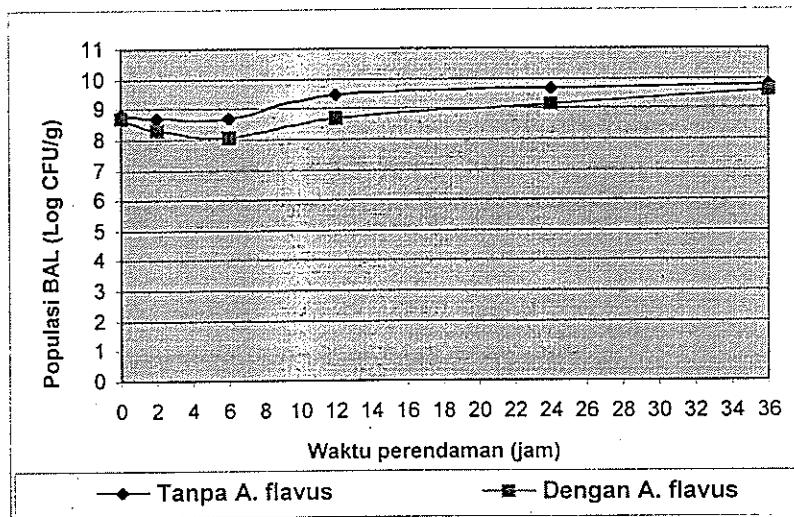
berikutnya yaitu pada perendaman 2 jam, 6 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam berturut-turut menjadi sebesar 4.67 unit log ( $4.7 \times 10^4$  CFU/ml), 4.31 unit log ( $2.1 \times 10^4$  CFU/ml), 3.95 unit log ( $9.0 \times 10^3$  CFU/ml), 3.80 unit log ( $6.4 \times 10^3$  CFU/ml), dan 3.64 unit log ( $4.4 \times 10^3$  CFU/ml). Dilihat dari penurunan yang terjadi dari perendaman 0 jam sampai perendaman 36 jam, jumlah *A. flavus* pada cairan perendam hanya turun sebesar 1 satuan log. Namun pada kontrol yaitu tanpa penambahan suspensi BAL, jumlah *A. flavus* pada cairan perendam cenderung mengalami kenaikan yaitu pada perendaman 0 jam sebesar 4.90 unit log ( $8.0 \times 10^4$  CFU/ml) dan diakhir perendaman yaitu perendaman 36 jam sebesar 4.99 unit log ( $9.8 \times 10^4$  CFU/ml) (Gambar 12).



Gambar 12. Pengaruh waktu perendaman dalam suspensi *L. plantarum* kik ( $10^8$  CFU/ml) terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada cairan perendam biji kacang tanah

Coallier-Ascah dan Idziak (1985) melaporkan bahwa sedikit atau bahkan tidak ada aflatoxin yang diproduksi ketika *Lactococcus lactis* dan *A. flavus* dicampurkan dalam *Lablemco Tryptone Broth* (LTB). Pertumbuhan kapang dihambat ketika spora kapang ditambahkan pada kultur *L. lactis* yang berumur tiga hari. Penghambatan tersebut diduga disebabkan oleh produksi asam laktat (Wiseman dan Marth, 1981). Hasil penelitian dari Karunaratne et al. (1990) menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat dari silase komersial yaitu *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. plantarum* dapat menghambat *A. flavus* dan produksi aflatoxin.

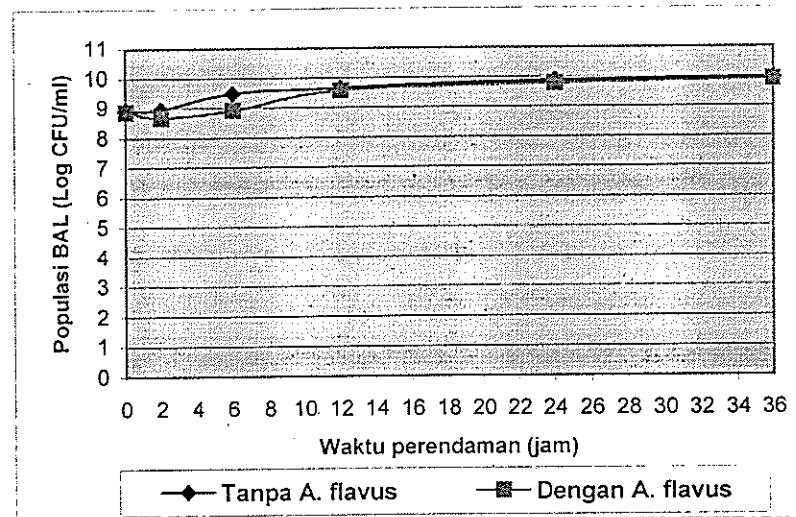
Pertumbuhan *L. plantarum* kik pada biji kacang tanah yang direndam dengan suspensi BAL dan ditambahkan *A. flavus* cenderung mengalami kenaikan meskipun pada perendaman 2 jam dan 6 jam mengalami sedikit penurunan yaitu pada perendaman 0 jam sebesar 8.71 unit log ( $5.1 \times 10^8$  CFU/ml), sedangkan pada perendaman 2 jam dan 6 jam berturut-turut menjadi sebesar 8.33 unit log ( $2.2 \times 10^8$  CFU/ml) dan 8.06 unit log ( $1.2 \times 10^8$  CFU/ml), namun setelah perendaman 6 jam jumlah populasi BAL makin meningkat hingga perendaman 36 jam sebesar 9.58 unit log ( $3.8 \times 10^9$  CFU/ml). Sedangkan jumlah *L. plantarum* kik pada biji kacang tanah yang direndam suspensi BAL tanpa penambahan spora *A. flavus* pada perendaman 0 jam sebesar 8.82 unit log ( $6.7 \times 10^8$  CFU/ml) hanya mengalami penurunan pada perendaman 2 jam yaitu sebesar  $4.9 \times 10^8$  CFU/ml, namun pada perendaman berikutnya populasi BAL meningkat meskipun relatif kecil yaitu menjadi 9.78 unit log ( $6.0 \times 10^9$  CFU/ml) pada perendaman 36 jam (Gambar 13).



Gambar 13. Pengaruh waktu perendaman biji kacang tanah terhadap populasi *L. plantarum* kik

Pada cairan perendam biji kacang tanah mentah, pertumbuhan *L. plantarum* kik pada perendaman 0 jam dengan penambahan *A. flavus* sebesar 8.87 unit log ( $7.4 \times 10^8$  CFU/ml) mengalami penurunan pada perendaman 2 jam yaitu sebesar 8.69 unit log ( $4.9 \times 10^8$  CFU/ml). Namun

perendaman berikutnya jumlah BAL mengalami kenaikan sampai perendaman 36 jam yaitu sebesar 9.90 unit log ( $7.9 \times 10^9$  CFU/ml). Sedangkan pada kontrol yaitu perendaman biji kacang tanah dengan suspensi BAL tanpa penambahan *A. flavus*, jumlah *L. plantarum* dari awal perendaman sampai perendaman 36 jam tidak mengalami penurunan dan justru terjadi peningkatan yaitu dari perendaman 0 jam sebesar 8.91 unit log ( $8.2 \times 10^8$  CFU/ml) dan pada perendaman 36 jam sebesar 9.94 unit log ( $8.8 \times 10^9$  CFU/ml) (Gambar 14).



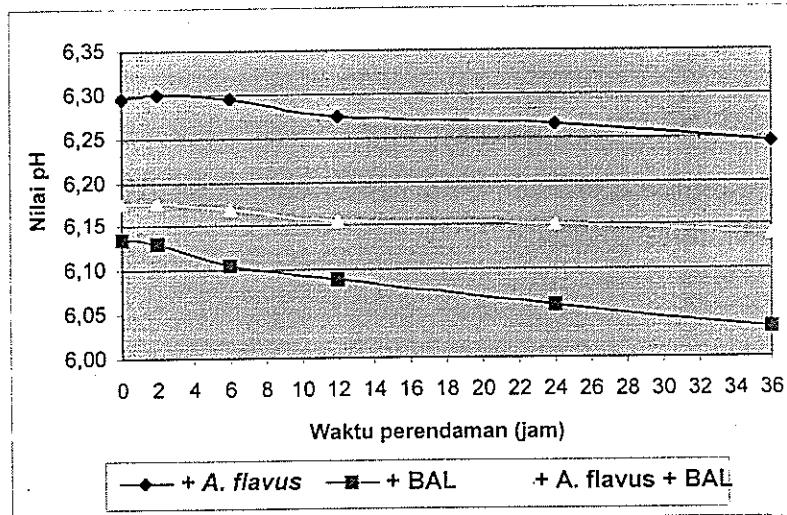
Gambar 14. Pengaruh waktu perendaman terhadap populasi *L. plantarum* kik pada cairan perendam biji kacang tanah

Dilihat dari hasil penelitian terhadap nilai pH baik pada perlakuan (perendaman biji kacang tanah dengan suspensi BAL dan ditambahkan *A. flavus*), pada kontrol BAL (tanpa penambahan *A. flavus*) maupun pada kontrol *A. flavus* (tanpa perendaman dengan suspensi BAL) pada biji kacang tanah maupun pada cairan perendamnya cenderung menunjukkan penurunan meskipun penurunan lebih besar terjadi pada kontrol BAL tanpa *A. flavus*. 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).

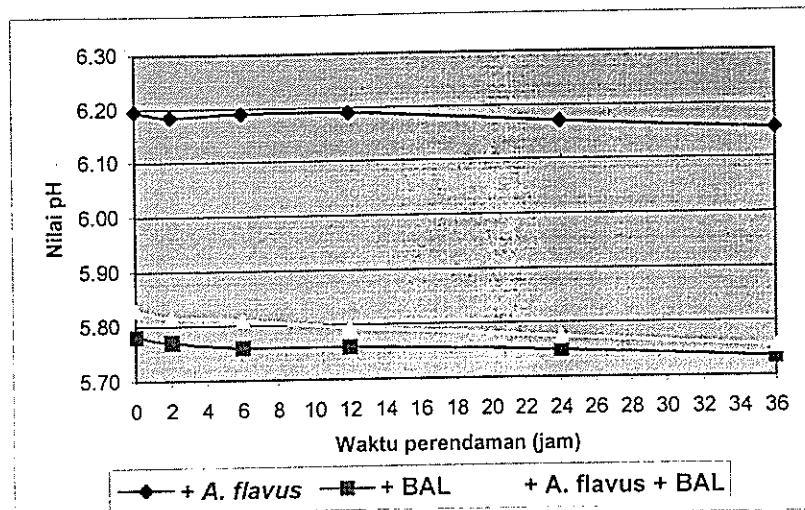
Nilai pH pada biji kacang tanah cenderung lebih besar bila dibandingkan dengan nilai pH pada cairan perendam. Nilai pH pada biji

kacang tanah cenderung lebih besar terdapat pada kontrol *A. flavus* yaitu pada awal perendaman 0 jam sebesar 6.3 dan menurun menjadi sebesar 6.2 pada perendaman 36 jam, begitu pula nilai pH pada cairan perendamnya juga cenderung mengalami penurunan yaitu pada perendaman 0 jam sebesar 6.20 dan pada perendaman 36 jam sebesar 6.16. Hal ini menunjukkan bahwa pH pada biji kacang tanah juga dipengaruhi oleh pH kacang tanah itu sendiri, dibandingkan pada pH pada cairan perendam biji kacang tanah.

Nilai pH pada perendaman biji kacang tanah dengan suspensi BAL tanpa penambahan spora *A. flavus* sebesar 6.2 (perendaman 0 jam) terjadi penurunan menjadi sebesar 6.1 (perendaman 36 jam) pada biji kacang tanah. Demikian pula pada cairan perendamnya juga terjadi penurunan sebesar 5.83 (0 jam) dan diakhir perendaman (36 jam) sebesar 5.76. Nilai pH pada kacang tanah untuk kontrol BAL sebesar 6.1 di awal perendaman (0 jam) dan 6.0 pada perendaman 36 jam, demikian juga nilai pH pada cairan perendamnya yang sama cenderung mengalami penurunan yaitu sebesar 5.8 (0 jam) dan 5.7 pada waktu perendaman 36 jam (Gambar 15 dan 16).



Gambar 15. Pengaruh waktu perendaman terhadap pH biji kacang tanah



Gambar 16. Pengaruh waktu perendaman terhadap pH cairan perendam biji kacang tanah

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. Nilai pH tergantung pada komposisi medium (Buchanan dan Ayres, 1975). Terbentuknya asam-asam organik dari hasil metabolit BAL menyebabkan penurunan pH. Akibatnya mikroba yang tidak tahan terhadap kondisi pH yang relatif rendah akan terhambat (Fardiaz, 1992). Menurut Jenie (1996) akumulasi produk akhir asam yang mengakibatkan rendahnya pH akan menghasilkan penghambatan yang luas terhadap gram negatif dan gram positif. Asam-asam yang tidak berdisosiasi dapat menembus sel mikroba, pada pH intraselular yang lebih tinggi asam tersebut berdisosiasi untuk menghasilkan ion-ion hidrogen dan mengganggu metabolit kapang (Baird-Parker, 1980 di dalam Jenie, 1996). Kondisi lingkungan dengan pH rendah menyebabkan spora kapang tidak dapat bergerminasi dengan baik (spora kapang tetap dalam keadaan dorman). Spora kapang akan tetap dalam keadaan dorman dipengaruhi oleh faktor barier penetrasi nutrisi, metabolit penghambat, senyawa inhibitor, dan kadar air.

### C. PENGARUH PERENDAMAN *L. plantarum* kik TERHADAP KANDUNGAN AFLATOKSIN PADA KACANG TANAH DENGAN KOMBINASI PROSES PENYANGRAIAN PADA PEMBUATAN ENTING-ENTING

Pada tahap ini juga dilakukan pengujian kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> pada kacang tanah mentah awal dan diperoleh hasil rata-rata sebesar 15.87 ppb sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan batas toleransi aflatoksin yang direkomendasikan. Berdasarkan Standar Codex Alimentarius kerjasama FAO/WHO bahwa batas maksimum total aflatoksin kacang tanah sebesar 15 ppb. Sedangkan batas maksimum yang ditetapkan oleh FDA pada kacang tanah dan makanan berbasis kacang tanah yaitu sebesar 20 ppb (Jay, 2000).

Hasil analisa kandungan aflatoksin dengan kombinasi perendaman BAL selama 24 jam dan proses penyangraian selama 30 menit menurunkan AFB<sub>1</sub> sebesar 74.18 % dari kontrol tanpa perendaman dengan BAL yaitu sebesar 91.93 ppb menjadi sebesar 23.74 ppb pada kacang tanah yang direndam dengan BAL selama 24 jam yang dikombinasikan dengan proses penyangraian selama 30 menit (Tabel 7). Namun dari hasil yang diperoleh ini yaitu sebesar 23.74 ppb untuk kandungan AFB<sub>1</sub> menunjukkan masih diatas batas maksimum total aflatoksin pada kacang tanah yang direkomendasikan baik oleh Standar Codex Alimentarius kerjasama FAO/WHO maupun FDA. Pada kacang tanah mentah polong yang kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> awalnya sebesar 114.29 ppb, setelah direndam dengan suspensi sel BAL (*Lactobacillus plantarum* sa28k, k<sub>2</sub> sel/ml) selama t<sub>5</sub> jam ternyata kandungan aflatoksinnya turun menjadi 39.07 ppb atau aktivitas antiaflatokksigeniknya sebesar 65.8 % (Ningrum, 2003).

Bahan makanan seperti serealia, kacang-kacangan dan makanan olahannya sering tercemar oleh kapang yang mungkin menghasilkan mikotoksin jika kondisi buruk. Kacang tanah yang telah tercemari oleh aflatoksin maka produk dari kacang ini juga akan mengandung racun tersebut. Oleh karena itu pada tahap ini kacang tanah sengaja dikontaminasi terlebih dahulu dengan aflatoksin B<sub>1</sub> yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas BAL terhadap kandungan aflatoksin B<sub>1</sub>.

Aflatoksin yang digunakan adalah aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), karena aflatoksin jenis ini paling tinggi tingkat toksitasnya bila dibandingkan dengan jenis lain (Diener dan Davis (1969) dan Oatley et al. (2000)). Selain itu, aflatoksin jenis B<sub>1</sub> paling sering ditemukan pada bahan makanan (Pitt dan Hocking, 1997).

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 epithel usus (Kankaanpaa *et al.*, 1999). Menurut Ciegler *et al.* (1996), *F. auranticum* dapat menurunkan aflatoksin dengan cara mengabsorbsi aflatoksin ke dalam dinding sel bakteri pada media cair. Line *et al.* (1994) menyatakan bahwa sel bakteri hidup dari *F. auranticum* membentuk ikatan dengan AFB<sub>1</sub> dan mengubahnya menjadi komponen larut air. Sel hidup *F. auranticum* dengan konsentrasi 10.1 log<sub>10</sub> CFU/ml pada buffer fosfat dapat mereduksi 75.9 % AFB<sub>1</sub> dengan waktu inkubasi 6 jam. Menurut Batish *et al.* (1991) senyawa antibiotik diduga merupakan polipeptida alami. Corsetti *et al.* (1998) menyebutkan bahwa asam kaproat memegang peranan utama dalam menghambat pertumbuhan kapang.

Pemanasan dapat pula mengurangi kontaminasi kapang dan mikotoksin pada bahan pangan atau pakan. Keefektifan pemanasan dalam merusak senyawa mikotoksin ini tergantung pada macam mikotoksin, waktu pemanasan, suhu pemanasan, dan kadar air dari komoditas pertanian tersebut. Aflatoksin, ZEN, dan trichothecene sangat stabil pada suhu yang cukup tinggi, tetapi sitrinin dan alkaloid ergot relatif mudah dirusak oleh pemanasan (Mobiuddin, 2000).

Cara memasak juga sangat menentukan derajat kerusakan senyawa mikotoksin. Kaimura (1999) menyatakan bahwa perebusan pada suhu 110 °C tidak terlalu berpengaruh terhadap kandungan mikotoksin, tetapi cara memasak dengan menggoreng (suhu 150-180 °C) dapat merusak (dekomposisi) mikotoksin. Pemanggangan di atas api langsung (suhu sekitar 210 °C) akan menyebabkan lebih banyak lagi mikotoksin yang rusak.

Kacang tanah yang dipanaskan pada oven microwave selama 3 dan 5 menit akan berkurang kandungan aflatoksinnya berturut-turut sebanyak 25 dan 49,25 % (Chinaphuti, 1999). Sinar ultraviolet dan radiasi juga dapat mendegradasi senyawa mikotoksin, antara lain dapat menurunkan kandungan AFM1 dalam susu (Yousef dan Marth, 1986). Namun, sinar ultraviolet dan radiasi dapat merusak senyawa-senyawa nutrisi pada bahan pangan dan pakan tersebut (Mobiuddin, 2000).

Tabel 7. Jumlah kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> dan tingkat penurunan aflatoksin oleh *L. plantarum* kik pada kacang tanah

Perlakuan	Ulangan	Residu AFB <sub>1</sub> (ppb)	Residu AFB <sub>1</sub> rata-rata (ppb)	Tingkat penurunan AFB <sub>1</sub> (%)
Kacang tanah mentah (awal tanpa perlakuan)	I	15.87	15.87	-
	II	15.87		
Kontrol (+ sangrai)	I	122.46	91.93	74.1'
	II	61.40		
Sampel (+ BAL + sangrai)	I	30.65	23.74	
	II	16.83		

#### D. EVALUASI ORGANOLEPTIK APLIKASI BAL PADA PROSES PEMBUATAN ENTING-ENTING

Pada proses pembuatan enting-enting ini dikombina kan dengan perendaman kacang tanah dengan suspensi BAL dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/ml selama 24 jam dan dilanjutkan dengan pengolaha enting-enting. Selain itu sebagai kontrolnya dilakukan perendaman dengan air akuades selama 24 jam. Setelah diperoleh produk enting-enting di lakukan evaluasi organoleptik dengan uji hedonik. Uji hedonik merupakan uji penerimaan berdasarkan panelis untuk menginterpretasikan tingkat kesukaan atau ketidaksukaannya. Penampakan dari enting-enting untuk sampel dan kontrol dapat dilihat pada Gambar 17.

Gambar 17. Penampakan kacang tanah dan enting-enting dengan BAL (A) dan tanpa BAL (B)

Pengujian hedonik dilakukan terhadap penampakan, warna, tekstur, dan rasa dari produk enting-enting. Panelis mengisi lembar penilaian terhadap kesan dari sampel yang disajikan. Penilaian panelis tersebut dikonversikan ke dalam skala numerik. Penilaian dilakukan berdasarkan tingkat-tingkat kesukaan yang disebut dengan skala hedonik (Soekarto, 1985). Sebaran nilai yang digunakan adalah : 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = agak tidak suka, 4 = netral (biasa), 5 = agak suka, 6 = suka, 7 = sangat suka. Dengan skala hedonik ini secara tidak langsung uji ini dapat digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan antara sampel yang diuji. Setelah itu hasil penilaian panelis diolah dengan menggunakan analisa *paired sample t-test*. *Paired sample t-test* adalah metode yang digunakan untuk menganalisa perbandingan untuk dua sampel yang berpasangan. Dua sampel yang berpasangan diartikan sebagai sebuah sampel dengan subjek yang sama namun mengalami dua perlakuan atau pengukuran yang berbeda.

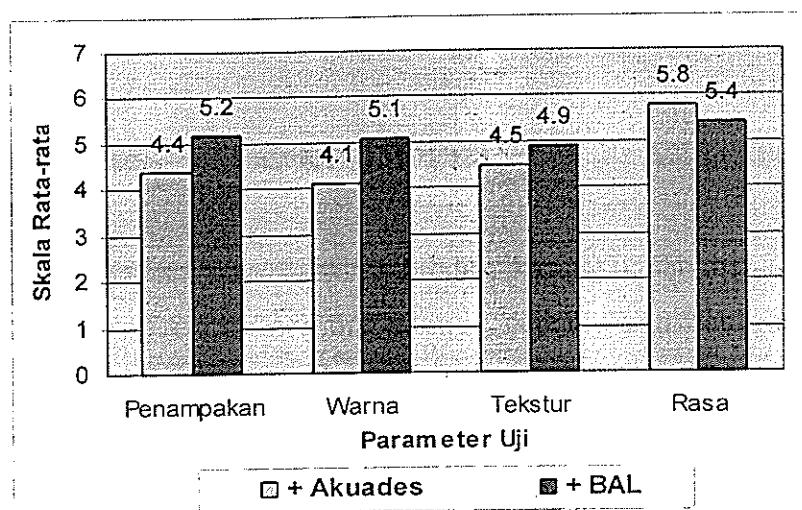
Berdasarkan hasil analisa dengan menggunakan *paired sample t-test* organoleptik enting-enting (Lampiran 6) diperoleh nilai signifikan untuk penampakan, warna, tekstur, dan rasa masing-masing sebesar 0.023, 0.000, 0.222, 0.103 yang berarti untuk penampakan dan warna sampel berbeda nyata dengan kontrol tanpa BAL, sedangkan untuk tekstur dan rasa sampel tidak berbeda nyata dengan kontrol tanpa BAL yang berarti masih dapat diterima

oleh panelis pada tingkat kepercayaan 95%. Penilaian perbedaan tingkat kesukaan panelis selain dengan menggunakan angka probabilitas juga dengan menggunakan nilai rata-rata dari dua sampel. Nilai rata-rata untuk penampakan, warna, tekstur, dan rasa pada kontrol tanpa perendaman BAL masing-masing sebesar 4.40, 4.10, 4.50, 5.80. Sedangkan nilai rata-rata penampakan sampel dengan perendaman BAL menunjukkan nilai lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol yaitu sebesar 5.20 yang berarti lebih disukai begitu juga dengan nilai rata-rata untuk warna dan tekstur pada sampel yaitu berturut-turut sebesar 5.10 dan 4.90. Sedangkan nilai rata-rata untuk rasa pada sampel menunjukkan nilai lebih rendah dibandingkan dengan kontrol tanpa perendaman BAL yaitu sebesar 5.40. Dari hasil yang diperoleh keduanya mempunyai nilai rata-rata lebih besar dari 4.00 yang berarti untuk sampel dan kontrol pada masing-masing parameter yang diuji masih diatas netral/biasa (Gambar 18).

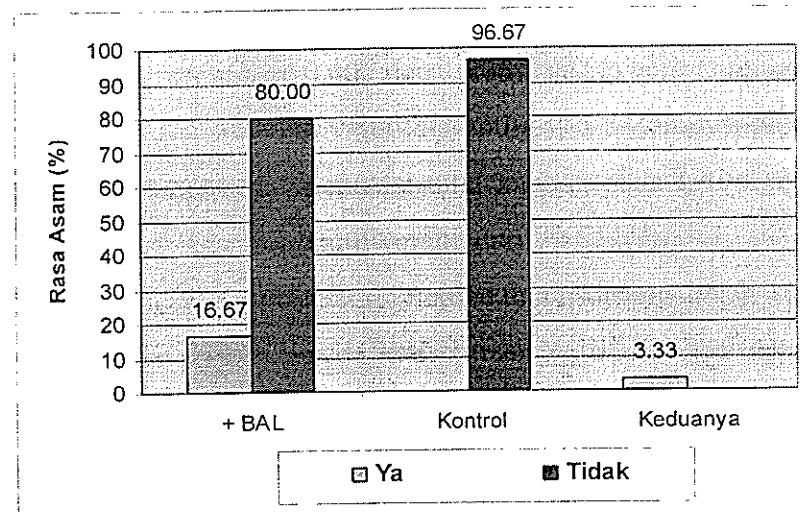
Selain itu panelis juga diminta memberikan respon terhadap rasa asam dan diperoleh hasil berdasarkan grafik histogram (Gambar 19) persentase rasa asam pada produk enting-enting dengan perendaman BAL dari 30 panelis sebanyak 16.67% menyatakan bahwa sampel memiliki rasa asam, tetapi sebanyak 80% tidak terdeteksi adanya rasa asam. Sedangkan pada kontrol tanpa perendaman BAL sebanyak 96.67% menyatakan kontrol tidak terdeteksi adanya rasa asam. Sebanyak 3.33% dari panelis menyatakan keduanya memiliki rasa asam. Hal ini diduga karena panelis yang digunakan adalah panelis tidak terlatih dan pengujian ini bersifat subjektif maka terjadi bias pada panelis mengenai interpretasi rasa asam tersebut. Dengan adanya rasa asam pada enting-enting yang pembuatannya dengan menambahkan perendaman suspensi BAL pada pengolahannya sebesar 20% dari 30 panelis,

---

menyebabkan nilai rata-rata rasa penilaian panelis terhadap tingkat kesukaan pada parameter uji rasa lebih rendah yaitu 5.4 dibandingkan dengan kontrol tanpa perendaman suspensi BAL yaitu sebesar 5.8, namun dilihat dari parameter yang lain panelis lebih menyukai enting-enting dengan perendaman suspensi BAL ditunjukkan dengan lebih tingginya nilai rata-rata penilaian panelis terhadap parameter uji penampakan, warna, dan tekstur.



Gambar 18. Nilai rata-rata penilaian panelis terhadap tingkat kesukaan organoleptik enting-enting berdasarkan skala hedonik



Gambar 19. Respon panelis terhadap rasa asam pada enting-enting

Menurut Dyah (2003) persentase rasa asam pada produk kacang oven dengan perendaman suspensi *Lactobacillus plantarum* pi28a dari 30 orang panelis sebanyak 73.33% menyatakan bahwa sampel tidak memiliki rasa asam, tetapi sebanyak 16.67% panelis mendeteksi adanya rasa asam pada sampel dan 10% panelis menyatakan kedua sampel tersebut asam. Pada kontrol tanpa BAL, 76.67% panelis mengatakan bahwa kacang oven tidak memiliki rasa asam dan sebanyak 13.33% panelis menyatakan adanya rasa asam pada sampel.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. KESIMPULAN

Produk kacang tanah bergula di masyarakat seperti enting-enting, enting-enting gepuk, dan ampyang masih ditumbuhinya kapang yang mengkontaminasi produk tersebut. Jenis kapang yang diisolasi dari produk-produk ini adalah *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., dan *Aspergillus niger*.

Kadar air enting-enting sebesar 4.07 % lebih tinggi dibanding dengan kedua produk kacang tanah yang lain yaitu pada ampyang sebesar 3.40 % dan enting-enting gepuk sebesar 2.22 %. Aktivitas air ( $a_w$ ) tertinggi dari ketiga produk kacang tanah bergula ini ada pada ampyang yaitu sebesar 0.59, sedangkan pada enting-enting dan enting-enting gepuk masing-masing sebesar 0.40 dan 0.35. sedangkan untuk nilai pH tidak jauh berbeda yaitu 5.9 (enting-enting), 5.5 (ampyang) dan 5.9 (enting-enting gepuk). Jumlah populasi total kapang pada ketiga jenis produk tidak banyak berbeda nyata, yaitu kurang dari 30 CFU/g.

Perendaman kacang tanah selama 24 jam dengan *L. plantarum* kik pada konsentrasi  $10^8$  CFU/ml dengan perbandingan volume kacang tanah dengan suspensi BAL pada larutan susu skim (1 : 2) mampu menurunkan pertumbuhan *A. flavus* sekitar 1 satuan log yaitu menjadi sebesar 2.95 unit log ( $8.9 \times 10^2$  CFU/ml). selama perendaman baik dalam BAL maupun pada kontrol, pH kacang tanah dan cairan perendamnya cenderung menurun berkisar pada pH 5-6.

Hasil analisa kandungan aflatoksin dengan kombinasi perendaman BAL selama 24 jam dan proses penyangraian selama 30 menit menurunkan AFB<sub>1</sub> sebesar 74.18% yaitu dari sebesar 91.93 ppb turun menjadi 23.74 ppb.

Hasil uji organoleptik enting-enting menunjukkan bahwa penampakan dan warna sampel berbeda nyata dengan kontrol tanpa BAL, sedangkan untuk tekstur dan rasa sampel tidak berbeda nyata yang berarti masih dapat diterima oleh panelis pada tingkat kepercayaan 95%.

Dengan demikian dapat direkomendasikan suatu teknologi proses pengolahan enting-enting dengan kombinasi aplikasi BAL ( $10^8$  CFU/ml) selama 24 jam dan proses penyangraian kacang tanah mampu mereduksi pertumbuhan *A. flavus* dan kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> tanpa mempengaruhi citarasa produk.

## B. SARAN

Hasil penelitian ini sebaiknya dilanjutkan dengan :

1. Mempelajari umur simpan produk kacang tanah yang telah diaplikasikan oleh BAL
2. Studi aplikasi BAL pada proses pengolahan kacang tanah dengan skala yang lebih besar (*scale-up*).

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M.R. dan M.O. Moss. 1995. Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Alexopolos, C.J. dan C.W. Mims. 1973. Introductory Mycology. John Wiley and Sons. New York, Chichester, Brisbane, Toronto.
- Al Zoreky, N.J.W., Ayres dan W.E. Sandine. 1991. Antimicrobial Activity of Microgard Against Food Spoilage and Pathogenic Microorganisme. J. Dairy Sci. 74 : 758-763
- Anonim, 1989. Microbes in The Intestine Our Life Long Partners. Yakult Honsa Co. Ltd. Tokyo.
- Anonim. 2001. Kacang Tanah Sebabkan Hepatitis. Harian Suara Pembaruan, Rabu 7 November. Jakarta.
- AOAC. 1984. Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemistry. Washington, DC.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyanto. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan. PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Atlas, R. M. 1984. Microbiology. Fundamentals and Application. Mc Millan Pub. Co. New York.
- Bahri, S. dan R. Widjastuti. 1998. Beberapa mikotoksin pada bahan pangan dan pakan serta kaitannya dengan kesehatan manusia dan hewan. Informasi Jamur, Penyakit pada Manusia dan Hewan. 1(4) Edisi 4: 10-16.
- Batish, V.K., L. Ram dan S. Grover. 1990. Studies on Environmental and Nutritional Factors on Production of Antifungal Substance by *Lactobacillus acidophilus*. J. Food Microbiol. 7 : 199-206
- Batish, V.K. 1991. Interaction of *S. lactis* subsp. *diacetylactis* DRC-1 with *Aspergillus parasiticus* and *A. fumigatus* in Milk. Cult. Dairy Prod. J. 26 (1) : 13-14
- Biro Pusat Statistik. 2000. Produksi Kacang Tanah. Jakarta.
- Buchanan, R. L. Jr. dan J. C. Ayres. 1975. Effect of Initial pH on Aflatoxin Production. J. Microbiol. Vol. (30) : 1050-1051.

- Chinaphuti, A. 1999. Decontamination of aflatoxin in food using microwave oven. In Mycotoxin Contamination: Health Risk and Prevention Project. Proceeding of International Symposium on Mycotoxicology, Chiba, Japan. 9-10 September 1999. p. 272-276.
- Coallier-Ascah, J., dan E.E. Isziak. 1985. Interaction between *Streptococcus lactis* and *Aspergillus flavus* on Production of Aflatoxin. Applied Env. Microbiol. 49 : 163-167
- 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 Acids Produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. Applied Microbiol. Biotechnol. 50:253-256
- Devegowda, G.B., U.R. Aravind, K. Rajendra, M.G. Morton, A. Baburathna, dan C. Sudarshan. 1994. Biological approach to counteract aflatoxicosis in broiler chickens and ducklings. In Proc. Altech's 10th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry. KY, USA. p. 235-246.
- De Vyust, L. dan E.J. Vandamme. 1994. Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria. *Di dalam : Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. L. De Vyust and Vandamme E. J. (eds.). Blackie Academic and Professional, London.
- Dyah, S. 2003. Penggunaan *Lactobacillus plantarum* pi28a untuk Mereduksi Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan Kandungan Aflatoksin B<sub>1</sub> pada Pengolahan Produk Kacang Asin. Skripsi FATETA-IPB, Bogor.
- El Gendy, S.M. dan E.H. Marth. 1981. Growth and Aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the Presence of *Lactobacillus casei*. J. Food Protect. 44 : 221-212
- El-Nezami, H.,P. Kankaanpaa, S. Salminen, dan J. Ahokas. 1998. Physicochemical alterations enhance the ability of dairy strains of Lactic acid Bacteria to remove aflatoxin from contaminated media. J. Food Protect. 61(4): 466-468.
- Fardiaz, S. 1989. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia. Jakarta.
- Fardiaz, S. dan R. Hadi. (1990). Bakteri Asam Laktat dan Perannya dalam Pengawetan Makanan. Media Teknologi Pangan. 4 (1) : 73 – 90. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.

- Frazier, W.C. dan Westhoff, D.C. 1981. Food Microbiology. Mc. Graw-Hill Book Co. New York.
- Giambrone, J.J. Diener, N.D. Davis, V.S. Panangola dan F.J. Hoerr. 1985. Effect of Aflatoxin on Young Tukeys and Boiler Chickens. Poultry Sci. 64 : 1678-1684
- Gilliland, S.E. 1986. Role of Starter Culture Bacteria in Food Preservation. *Didalam Bacterial Starter Cultures For Foods.* Gilliland, S.E. (ed.). CRC Press, Inc., Boca Rotan, Florida. P. 175-185
- Hadi, R. dan S. Fardiaz. 1990. Bakteri Asam Laktat dan Peranannya dalam Pengawetan Makanan. Media Teknol. Pangan Vol. 4 (5) : 73-79
- Hardisyah, D. dan Briawan. 1998. Penilaian dan Perencanaan Konsumsi Pangan. Gizi Masyarakat dan Sumber Daya Keluarga, Bogor.
- Haryadi, Y. dan E. Setiastuti. 1994. Characterisation of aflatoxin B1, B2, G1, and G2 in groundnuts and groundnut products. In Highley, E., E.J. Wright, H.J. Bank, B.R. Champ (eds.) *Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Working Conference on Storage Product Protection*, 17-23 April 1994. Canberra, Australia. Vol. 2: 996-998.
- ICRISAT. 1993. Legumes Program Annual Report 1992. International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics, Patancheru, India.
- Indian Council of Agricultural Research. 1978. Aflatoxin in Groundnut. Technologies for Better Crops. Krishi Anusandhan Bhavan. New Delhi.
- Jay, J.M. 2000. Modern Food Microbiology 6<sup>th</sup> edition. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg.
- Jenie, B.S.L. 1996. Peranan Bakteri Asam Laktat sebagai Pengawet Hayati Makanan. J. Ilmu dan Teknol. Pangan. 1(20):60-73
- Jenie, B.S.L., Suliantari dan N. Andjaja. 2000. Pengembangan Produk Makanan Tradisional Rendah Garam Berbasis Ikan melalui Aplikasi Bakteri Asam Laktat penghasil Bakteriosin. Laporan Penelitian Hibah Bersaing tahun 1999/2000.
- Kaimura, H. 1999. Removal of Mycotoxins during food processing. In *Mycotoxin Contamination: Health Risk and Prevention Project. Proceeding of International Symposium of Mycotoxicology*, Chiba, Japan. 9-10 September 1999. p. 88-94.
- Kankaanpaa, P., T. Elina., E.N. Hani., H. Jorma. dan J.S. Seppo. 1999. Binding of Aflatoxin B<sub>1</sub> Alters the Adhesion Properties of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in a caco-2 model. J. Food. Protect. 63 : 412-414

- Kankaanpaa, P., E. Tuomola, H. El-Nezami, J. Ahokas, dan S.J. Salminen. 2000. Binding of aflatoxin B<sub>1</sub> alters the adhesion properties of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in a Caco-2 Model. *J. Food Protect.* 63(3): 412-414.
- Karunaratne, A., E. Wezenbergh dan L.B. Bullerman. 1990. Inhibition of Growth and Aflatoxin Production by *Lactobacillus spp.* *J. Food Protect.* 53: 230-236
- Larsen, A.G., F.K. Vogensen dan J. Josephsen. 1993. Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Sourdough : Purification and Characterization of Bavarizin A, a Bacteriocins Product by *Lactobacillus bavaricus* M 1401. *J. of Applied Bacteriology.* 75:113
- Lavermicocca, P., F. Valerio, A. Evidente, S. Lazzaroni, A. Corsetti dan M. Gobbetti. 2000. Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl. and Environ. Microbiol.* P. 4084-4090
- Lilieanny. 2002. Populasi Cendawan Pascapanen dan Kandungan Aflatoksin pada Produk Kacang Tanah. Skripsi FATETA-IPB, Bogor.
- Line E. J., R. E. Brackett dan R. E Wilkinson. 1994. Evidence for Degradation of Aflatoxin B<sub>1</sub> by *Flavobacterium auranticum*. *J. Food Protect.* Vol. 57 (9) : p. 788-791
- Makfoeld, Djarier. 1993. Mikotoksin Pangan. PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Mobiuddin, S.M. 2000. Handling mycotoxin contaminated feedstuffs. *Poult. Intl.* June 2000. p. 46-52.
- Moreau, C. dan M. Moss 1979. Mould, Toxins and Food. John Wiley and Sons. Chichester. New York. Brisbane.
- Niku-Paavola, M.L., A. Laitila, T. Mattila-Sandholm, dan A. Haikara. 1992. New Types of Antimicrobial Compounds Produced by *L. plantarum*. *J. Applied Microbiol.* 86 : 29-35
- Ningrum. 2003. Aplikasi *Lactobacillus plantarum* sa28k untuk Menghambat Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan Mereduksi Aflatoksin Sebelum Pemanggangan dan Perebusan Kacang Tanah Polong. Skripsi FATETA-IPB, Bogor.
- Oatley, J.T., M.D. Rarick, G.E. Ji, dan J.E. Linz. 2000. Binding of aflatoxin B<sub>1</sub> to Bifidobacteria in vitro. *J. Food Protect.* 63(8): 1.133-1.136.
- Patel, N.V. 1993. Distribution, Area, Production and Trade. *Di dalam* : A. Kasno, A. Winarto dan Sunardi (eds.). Kacang tanah. Balai Penelitian Tanaman Pangan Malang, Malang.

- Pitt, J.C. dan A.D. Hocking. 1991. Significance of Fungi in Stored Product. *Di dalam* Fungi and Mycotoxin in Stored Product. ACIAR Proceedings. 36 : 16-21
- Pitt, J.C. dan A.D. Hocking. 1997. Fungi and Food Spoilage. Blackie Academic and Professional, London.
- Pot, B., W. Ludwig, Kersters dan Schleifer, K. 1994. Taxonomy of Lactic acid Bacteria. *Di dalam* : Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. L. De Vyust and Vandamme E. J. (eds). Blackie Academic and Professional, London.
- Rahayu, W.P. 1997. Penuntun Praktikum Penilaian Organoleptik. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Raper, K.B. dan D.I, Fennel. 1977. The Genus *Aspergillus*. Robert E. Krieger. Pub. Company. Hungtingtin. New York.
- Roy, U., V.K. Batish, S. Grover dan S. Neelakantan. 1996. Production of Antifungal Substance by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CHD-28.3. Int. J.of Food Microbiol. 32 : 27-34
- Soekarto, S.T. 1985. Penilaian Organoleptik. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fateta IPB. Bogor.
- Stamer, J.R. 1979. The Lactic Acid Bacteria : Microbes of diversity. Food Tech 33(1): 60-95
- Standar Nasional Indonesia 01-3921-1995. Kacang Tanah. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Stanley, V.G., R.U.S. Woldesenbet, dan D.H. Hutchinson. 1993. The use of *Saccharomyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. Poult. Sci. 71: 1.867.
- Sumarno dan I. Manwan. 1991. Program Nasional Penelitian Kacang-kacangan. Balai Penelitian Tanaman Pangan Malang, Malang.
- Syarief, R., and H. Halid. 1992. Teknologi Penyimpanan Pangan. PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Trustinah. 1993. Biologi Kacang tanah. *Di dalam* : : A. Kasno, A. Winarto dan Sunardi (ed.). Kacang tanah. Balai Penelitian Tanaman Pangan, Malang.
- Vandenbergh, P.A. 1993. Lactic Acid Bacteria, Their Metabolic Products and Interference with Microbial Growth. FEMS Microbial Rev., 12, 221-237

- Willy, T.D. dan L.G. Morehouse. 1978. Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicosis. An Encyclopedic Handbook. Vol 3. Marcel Dekker. Inc. New York and Basel.
- Winarno, F.G. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia, Jakarta.
- Wiseman, D.W. dan E.H. Marth. 1981. Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* when in the Presence of *Streptococcus lactis*. Mycopathologia 73 : 49-56
- Woodroof, J.P. 1966. Peanuts : Production, Processing, Products. The AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.
- Wulan, S. 1990. Pengaruh Tahap Proses Fermentasi Bungkil Kacang Tanah dari *R. oligosporus* Terhadap Kandungan Aflaktoksin. Skripsi Fateta. IPB. Bogor.
- Yousef, A.E. dan E.H. Marth. 1986. Use of ultraviolet energy to degrade aflatoxin M1 in raw or heated milk and without added peroxide. J. Dairy Sci. 69: 2.243.
- Zahari. P.. S. Bahri, dan R. Maryam. 1991. Mycotoxin contamination of peanuts after harvest in Sukabumi, West Java, Indonesia In Champ et al. (eds). Fungi and Mycotoxin in Stored Products. Proceedings of an International Conference held at Bangkok, Thailand 23-26 April 1991. p. 220

**Lampiran 1. Analisa Kimia dan Mikrobiologi dari Beberapa Produk Kacang Tanah**

Analisa	Enting-enting	Ampyang	Enting-enting Gepuk
Kadar air (%)	4.07	3.40	2.22
Aktivitas air ( $a_w$ )	0.40	0.59	0.35
pH	5.9	5.5	5.9
Jumlah Kapang (CFU/g)	$< 3.0 \times 10^1$ $(1.9 \times 10^1)$	$3.1 \times 10^1$	$< 3.0 \times 10^1$ $(2.2 \times 10^1)$
Jenis kapang :	- <i>Aspergillus flavus</i> - <i>Penicillium</i> sp.	- <i>Aspergillus flavus</i> - <i>Aspergillus niger</i> - <i>Penicillium</i> sp.	- <i>Aspergillus flavus</i> - <i>Penicillium</i> sp.

**Lampiran 2. Pengaruh Waktu Perendaman *L. plantarum* kik ( $10^8$  CFU/m) terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada Biji Kacang Tanah dan Cairan Perendam Kacang Tanah**

Waktu Perendaman	$\Sigma A. flavus$ pada Biji Kacang Tanah (CFU/g)						
	Kontrol Kapang (+ <i>A. flavus</i> )			Sampel (+ <i>A. flavus</i> + <i>L. plantarum</i> kik)			
Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Log Rata-rata	
0	68000	57000	62500	4,80	54000	46000	50000
2	31000	49000	40000	4,60	9600	53000	31300
6	42000	56000	49000	4,69	8000	32000	20000
12	37000	65000	51000	4,71	7300	6000	6650
24	40000	68000	54000	4,73	810	960	885
36	53000	71000	62000	4,79	650	880	765
							2,88

Waktu Perendaman	$\Sigma A. flavus$ pada Cairan Perendam Biji Kacang Tanah (CFU/ml)						
	Kontrol Kapang (+ <i>A. flavus</i> )			Sampel (+ <i>A. flavus</i> + <i>L. plantarum</i> kik)			
Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Log Rata-rata	
0	78000	81000	79500	4,90	72000	68000	70000
2	84000	63000	73500	4,87	38000	56000	47000
6	97000	88000	92500	4,97	9200	32000	20600
12	89000	70000	79500	4,90	8700	9300	9000
24	95000	89000	92000	4,96	5300	7400	6350
36	99000	97000	98000	4,99	4900	3800	4350
							3,64

**Lampiran 3. Pengaruh Waktu Perendaman *L. plantarum* kik ( $10^8$  CFU/ml) terhadap Populasi *L. plantarum* kik pada Biji Kacang Tanah dan Cairan Perendam Biji Kacang Tanah**

Waktu Perendaman	$\Sigma L. plantarum$ kik pada Biji Kacang Tanah (CFU/g)						Sampel (+ <i>A. flavus</i> + <i>L. plantarum</i> kik)		
	Kontrol BAL (+ <i>L. plantarum</i> kik)						Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Log Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II			
0	560000000	770000000	665000000	8,82	440000000	580000000	510000000	510000000	8,71
2	330000000	640000000	485000000	8,69	720000000	360000000	216000000	216000000	8,33
6	180000000	840000000	510000000	8,71	140000000	890000000	114500000	114500000	8,06
12	580000000	500000000	279000000	9,45	490000000	450000000	470000000	470000000	8,67
24	340000000	610000000	475000000	9,68	180000000	820000000	131000000	131000000	9,12
36	470000000	730000000	600000000	9,78	210000000	550000000	380000000	380000000	9,58

Waktu Perendaman	$\Sigma L. plantarum$ kik pada Cairan Perendam Biji Kacang Tanah (CFU/ml)						Sampel (+ <i>A. flavus</i> + <i>L. plantarum</i> kik)		
	Kontrol BAL (+ <i>L. plantarum</i> kik)						Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Log Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II			
0	890000000	750000000	820000000	8,91	670000000	810000000	740000000	740000000	8,87
2	870000000	920000000	895000000	8,95	280000000	690000000	485000000	485000000	8,69
6	510000000	960000000	303000000	9,48	720000000	900000000	810000000	810000000	8,91
12	940000000	790000000	442000000	9,65	690000000	683000000	374500000	374500000	9,57
24	660000000	860000000	760000000	9,88	450000000	750000000	600000000	600000000	9,78
36	830000000	930000000	880000000	9,94	770000000	810000000	790000000	790000000	9,90

Lampiran 4. Pengaruh Waktu Perendaman terhadap pH pada Biji Kacang Tanah dan Cairan Perendam Biji Kacang Tanah

Waktu Perendaman	Nilai pH									
	Kontrol Kapang (+ <i>A. flavus</i> )					Kontrol BAL (+ <i>L. plantarum</i> kik)				
	Biji Kacang Tanah		Cairan Perendam			Biji Kacang Tanah		Cairan Perendam		
Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II
0	6,31	6,28	6,30	6,21	6,18	6,20	6,18	6,09	6,14	5,79
2	6,31	6,29	6,30	6,19	6,18	6,19	6,17	6,09	6,13	5,78
6	6,3	6,29	6,30	6,19	6,19	6,19	6,13	6,08	6,11	5,76
12	6,28	6,27	6,28	6,20	6,18	6,19	6,12	6,06	6,09	5,78
24	6,27	6,26	6,27	6,18	6,16	6,17	6,09	6,03	6,06	5,74
36	6,26	6,23	6,25	6,16	6,15	6,16	6,07	6,00	6,04	5,75

Waktu Perendaman	Nilai pH									
	Sampel (+ <i>A. flavus</i> + <i>L. plantarum</i> kik)					Cairan Perendam				
	Biji Kacang Tanah		Cairan Perendam			Biji Kacang Tanah		Cairan Perendam		
Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II	Rata-rata	Ulangan I	Ulangan II
0	6,19	6,16	6,18	5,85	5,81	5,83	5,81	5,83	5,83	5,83
2	6,19	6,16	6,18	5,83	5,8	5,82	5,8	5,82	5,82	5,82
6	6,18	6,16	6,17	5,83	5,79	5,81	5,79	5,81	5,81	5,81
12	6,16	6,15	6,16	5,80	5,79	5,80	5,79	5,80	5,79	5,80
24	6,15	6,15	6,15	5,78	5,77	5,78	5,77	5,78	5,74	5,75
36	6,15	6,13	6,14	5,77	5,74	5,76	5,74	5,76	5,72	5,74

Lampiran 5. Hasil Uji Hedonik Enting-enting

Panelis	Penampakan				Nilai (Skala Hedonik)				Rasa
	Kode 827 Kontrol (+ Akuades)	Kode 558 Sampel (+ <i>L. plantarum</i> klik)	Kode 827 Kontrol (+ Akuades)	Kode 558 Sampel (+ <i>L. plantarum</i> klik)	Kode 827 Kontrol (+ Akuades)	Kode 558 Sampel (+ <i>L. plantarum</i> klik)	Kode 827 Kontrol (+ Akuades)	Kode 558 Sampel (+ <i>L. plantarum</i> klik)	
1	3	4	3	5	6	4	7	6	
2	4	4	5	5	5	6	6	6	
3	4	6	6	7	4	6	7	6	
4	4	6	5	6	6	5	6	5	
5	6	5	4	6	3	6	6	5	
6	6	3	5	6	2	3	6	6	
7	3	6	4	6	3	2	7	4	
8	4	6	2	6	4	6	4	6	
9	7	6	6	7	7	6	7	6	
10	6	6	4	4	5	5	7	6	
11	2	6	2	6	3	6	7	6	
12	4	6	4	6	4	5	5	6	
13	7	6	7	6	6	6	7	4	
14	6	6	4	4	6	7	6	7	
15	6	6	5	6	7	6	6	6	
16	1	6	2	3	6	2	6	6	
17	6	6	6	6	7	6	7	6	
18	4	4	2	3	3	3	4	3	
19	4	4	3	3	3	4	5	4	
20	6	4	4	2	2	2	6	6	
21	3	4	6	6	3	4	3	3	
22	6	5	5	6	6	5	4	4	
23	4	4	2	2	6	6	6	6	
24	3	4	3	4	2	4	4	4	
25	3	5	4	5	4	5	6	3	
26	6	6	4	4	3	7	7	7	
27	2	6	3	6	3	6	3	6	
28	3	6	4	5	5	3	7	6	
29	6	6	6	7	6	6	7	7	
30	3	4	3	6	4	5	6	6	

## T-Test

Lampiran 6. Hasil Output Analisa Enting-enting dan Nilai Rata-rata Penilaian Panelis Terhadap Tingkat Kesukaan Organoleptik Enting-enting Berdasarkan Skala Hedonik

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Penampakan kontrol	4.40	30	1.632	.298
	Penampakan sampel	5.20	30	.997	.182
Pair 2	Warna kontrol	4.10	30	1.423	.260
	Warna sampel	5.10	30	1.398	.255
Pair 3	Tekstur kontrol	4.50	30	1.656	.302
	Tekstur sampel	4.90	30	1.470	.268
Pair 4	Rasa kontrol	5.80	30	1.243	.227
	Rasa sampel	5.40	30	1.192	.218

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Penampakan kontrol & Penampakan sampel	30	.098	.608
Pair 2	Warna kontrol & Warna sampel	30	.549	.002
Pair 3	Tekstur kontrol & Tekstur sampel	30	.375	.041
Pair 4	Rasa kontrol & Rasa sampel	30	.428	.018

**Lampiran 6. Hasil Output Analisa Enting-enting dan Nilai Rata-rata Penilaian Panelis Terhadap Tingkat Kesukaan Organoleptik Enting-enting Berdasarkan Skala Hedonik (Lanjutan)**

Paired Samples Test									
		Mean	Std. Deviation	Paired Differences		Sig. (2-tailed)			
				Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Penampakan kontrol - Penampakan sampel	-.80	1.827	.334	-1.48	-.12	-2.398	.29	.023
Pair 2	Warna kontrol - Warna sampel	-1.00	1.339	.244	-1.50	-.50	-4.090	.29	.000
Pair 3	Tekstur kontrol - Tekstur sampel	-.40	1.754	.320	-1.05	.25	-1.249	.29	.222
Pair 4	Rasa kontrol - Rasa sampel	.40	1.303	.238	-.09	.89	1.682	.29	.103

**Nilai Rata-rata Penilaian Panelis Terhadap Tingkat Kesukaan Organoleptik Enting-enting Berdasarkan Skala Hedonik**

Parameter	Nilai Rata-rata		Kode 827 Kontrol(+ Akuades)
	Kode 558 Sampel (+ <i>L. plantarum</i> kik)	Kode 827	
Penampakan	5.2	4.4	
Warna	5.1	4.1	
Tekstur	4.9	4.5	
Rasa	5.4	5.8	

**Lampiran 7. Respon Panelis terhadap Rasa Asam pada Enting-enting**

Panelis	Uji Skoring Hedonik					
	Kode 558 Sampel (+ <i>L. plantarum</i> kik)		Kode 827 Kontrol (+ Akuades)		Kode 558 + 827	
	Asam	Tidak	Asam	Tidak	Asam	Tidak
1	-	-	-	-	✓	-
2	-	✓	-	✓	-	-
3	-	✓	-	✓	-	-
4	✓	-	-	✓	-	-
5	-	✓	-	✓	-	-
6	✓	-	-	✓	-	-
7	-	✓	-	✓	-	-
8	-	✓	-	✓	-	-
9	✓	-	-	✓	-	-
10	-	✓	-	✓	-	-
11	-	✓	-	✓	-	-
12	-	✓	-	✓	-	-
13	-	✓	-	✓	-	-
14	✓	-	-	✓	-	-
15	-	✓	-	✓	-	-
16	✓	-	-	✓	-	-
17	-	✓	-	✓	-	-
18	-	✓	-	✓	-	-
19	-	✓	-	✓	-	-
20	-	✓	-	✓	-	-
21	-	✓	-	✓	-	-
22	-	✓	-	✓	-	-
23	-	✓	-	✓	-	-
24	-	✓	-	✓	-	-
25	-	✓	-	✓	-	-
26	-	✓	-	✓	-	-
27	-	✓	-	✓	-	-
28	-	✓	-	✓	-	-
29	-	✓	-	✓	-	-
30	-	✓	-	✓	-	-
$\Sigma (%)$	16,67	80,00	-	96,67	3,33	-

Ket : Rasa asam tersebut tidak diharapkan

**Lampiran 8. Contoh Lembar Penilaian pada Uji Organoleptik Enting-enting**

**UJI HEDONIK**

Nama	:	
Tanggal	:	
Produk	:	Enting-enting
Instruksi	:	Nyatakan penilaian anda dengan memberi tanda <input checked="" type="checkbox"/> pada skala yang anda anggap sesuai dengan penilaian anda. Sampel tidak saling dibandingkan.

<b>A. Penampakan</b>		
<b>Penilaian</b>	<b>558</b>	<b>827</b>
Sangat suka		
Suka		
Agak suka		
Netral (biasa)		
Agak tidak suka		
Tidak suka		
Sangat tidak suka		

<b>B. Warna</b>		
<b>Penilaian</b>	<b>558</b>	<b>827</b>
Sangat suka		
Suka		
Agak suka		
Netral (biasa)		
Agak tidak suka		
Tidak suka		
Sangat tidak suka		

<b>C. Tekstur</b>		
<b>Penilaian</b>	<b>558</b>	<b>827</b>
Sangat suka		
Suka		
Agak suka		
Netral (biasa)		
Agak tidak suka		
Tidak suka		
Sangat tidak suka		

<b>D. Rasa</b>		
<b>Penilaian</b>	<b>558</b>	<b>827</b>
Sangat suka		
Suka		
Agak suka		
Netral (biasa)		
Agak tidak suka		
Tidak suka		
Sangat tidak suka		

Kode	<b>Pendeteksian terhadap rasa asam</b>	
	<b>Asam</b>	<b>Tidak asam</b>
558		
827		

Lampiran 9. Kandungan Aflatoksin B<sub>1</sub> pada Kacang Tanah yang Dikombinasikan dengan Perendaman BAL dan Penyanganan

Perlakuan	Ulangan	Residu AFB <sub>1</sub> (ppb)	Residu AFB <sub>1</sub> rata-rata (ppb)	Tingkat penurunan AFB <sub>1</sub> (%)
Kacang tanah mentah (kacang tanah awal tanpa perlakuan)	I	15.87	15.87	
	II	15.87		
Kontrol (kacang tanah + AFB <sub>1</sub> + sangrai)	I	122.46	91.93	74.18
	II	61.40		
Sampel (kacang tanah + AFB <sub>1</sub> + BAL + sangrai)	I	30.65	23.74	
	II	16.83		

## Lampiran 10. Contoh Kromatogram pada Standar dan Sampel

D-7000 HSM: Samples

Series: 0420

Report: original

System: Sys 1

## D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 04/07/04 02:26 PM

Reported: 05/17/04 01:14 PM

Processed: 04/07/04 02:46 PM

Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0420\

Processing Method: aflatoxin fluorescence

System(acquisition): Sys 1

Series:0420

Application: Samples

Vial Number: 1

Sample Name: Std Afla Campuran001

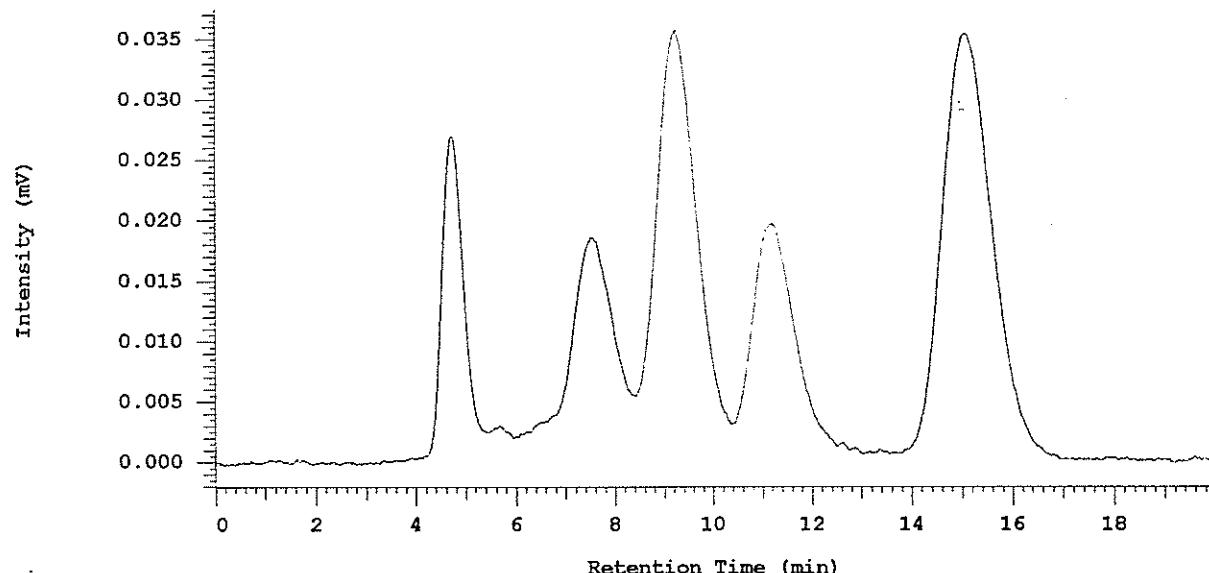
Vial Type: STD1

Injection from this vial: 1 of 1

Volume: 20.0 ul

Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 2



Acquisition Method: aflatoxin fluorescence

Column Type: Developed by:

Method Description: C18 column, deriv TFA, fluorescence, fasa gerak : MeOH/CH<sub>3</sub>COOH/H<sub>2</sub>O (15 : 20 ;65)- flow rate 0.8 ml/min

Chrom Type: HPLC Channel : 2

Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: EXT-STD

No.	RT	Area	Height	Name	Conc 1 ug/mL
1	1.10	3292	175		0.000000
2	1.61	267	109		0.000000
3	4.71	360282	12788		0.000000
4	5.68	1350	183		0.000000
5	7.49	449642	8143	AFG1	0.200000
6	9.21	957247	16945	AFB1	0.0400000
7	11.17	558005	9250	AFG2	0.200000
8	13.36	4889	237		0.000000
9	15.03	1212919	17477	AFB2	0.100000
10	19.57	873	160		0.000000
3548766					0.540000

Lampiran 10. Contoh Kromatogram pada Standar dan Sampel (Lanjutan)

D-7000 HSM: Samples

Series: 0454

Report: original

System: Sys 1

**D-7000 HPLC System Manager Report**

Analyzed: 04/19/04 01:51 PM

Reported: 05/17/04 12:37 PM  
Processed: 04/19/04 02:05 PM

Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0454\

Processing Method: aflatoxin fluorescence

System(acquisition): Sys 1

Series:0454

Application: Samples

Vial Number: 6

Sample Name: Spl.K/T/A/IPBfp.1000ul

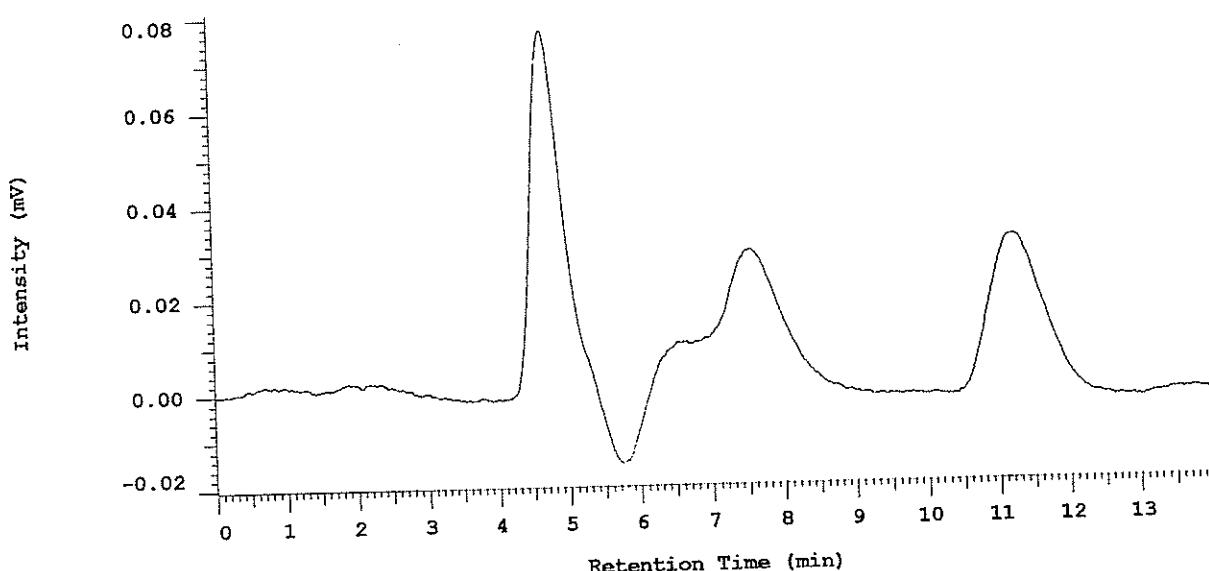
Vial Type: UNK

Injection from this vial: 1 of 1

Volume: 20.0 ul

Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 2



Acquisition Method: aflatoxin fluorescence

Developed by:

Column Type:

Method Description: C18 column, deriv TFA, fluorescence, fasa gerak :  
MeOH/CH<sub>3</sub>COOH/H<sub>2</sub>O (15 : 20 ;65)- flow rate 0.8 ml/min

Chrom Type: HPLC Channel : 2

Peak Quantitation: AREA

Calculation Method: EXT-STD

No.	RT	Area	Height	Name	Conc 1 ug/mL
1	0.71	18751	985		0.000000
2	0.83	5207	947		0.000000
3	0.97	17943	944		0.000000
4	1.60	3127	400		0.000000
5	1.88	16847	959		0.000000
6	2.26	14017	779		0.000000
7	2.97	2118	273		0.000000
8	3.77	8745	736		0.000000
9	4.68	1550266	42563		0.100053
10	6.64	401309	11184	AFG1	0.0496085
11	7.55	1419937	19194	AFB1	
12	9.34	1382	264	AFG2	0.000298238