

REDUKSI AFLATOKSIN B₁ (AFB₁) DENGAN PEREBUSAN DALAM LARUTAN KAPUR PADA PEMBUATAN ENTING-ENTING

Reduction of Aflatoxin B₁ (AFB₁) by Boiling In Lime Solution on Enting-Enting Processing

Marwati¹, Endang S. Rahayu², Retno Indrati²

ABSTRAK

Aflatoxin merupakan toksin yang dihasilkan oleh *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* yang banyak terdapat pada biji-bijian seperti kacang tanah dan produknya. Enting-enting merupakan salah satu produk makanan yang berbasis kacang tanah. Berdasarkan hasil survei enting-enting memiliki kandungan aflatoxin B₁ (AFB₁) cukup tinggi diatas yang diperbolehkan badan POM (20 ppb) yaitu 144 ppb. Penelitian ini dimaksudkan untuk mempelajari penurunan aflatoxin pada pengolahan enting-enting yang dimodifikasi proses pembuatannya dengan penggunaan larutan kapur (0 %; 0,5 %; 1,5 % dan 2,5 %) yang dikombinasi dengan lama perebusan (0, 10, 15, dan 20 menit) dengan tujuan untuk mereduksi cemaran AFB₁ pada bahan dasar dan mengidentifikasi reduksi AFB₁ pada setiap tahapan pengolahan yang berpotensi menurunkan cemaran AFB₁. Kacang tanah yang digunakan untuk pengolahan enting-enting pada penelitian ini terlebih dahulu dicemari dengan *Aspergillus flavus* FNCC 6109. Kadar aflatoxin diukur dengan menggunakan metode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Hasil penelitian menunjukkan bahwa modifikasi pengolahan enting-enting dengan penggunaan kapur konsentrasi 0,5 % dikombinasikan dengan lama perebusan 20 menit pada perebusan larutan kapur mampu mereduksi AFB₁ 47,8 % diikuti dengan penyangraian 41,4% dan penghilangan kulit ari 17,07 %, dengan total penurunan 73,96 % dan tetap mempertahankan cita rasa.

Kata kunci: Aflatoxin B₁, kacang tanah, enting-enting, kapur, perebusan, ELISA

ABSTRACT

Aflatoxin is a toxin produced by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus paraciticus* found on most grains like peanut and its products. Enting-enting is one of food product basically made from peanuts. Previous survey stated that enting-enting has high enough aflatoxin content until 144 ppb which is more than allowable limit 20 ppb. This study aimed to know the decrease of aflatoxin on production of enting-enting which the process had been modified in to 0 %; 0.5 %, 1.5 % and 2.5 % lime solutions and was combined with 0, 10, 15, and 20 minutes boiling time. These combinations were utilized to reduce and identify AFB₁ reduction on a raw peanut. Peanuts was inoculated with *A. flavus* FNCC 6109 (as aflatoxin producer) prior using for enting-enting processing. The aflatoxin content was measured by ELISA method (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). The results of this research showed that modification of enting-enting production utilizing 0.5 % lime solution combined with 20 minutes boiling time was able to reduce aflatoxin 47.8 %, 41.4 % and 17.07 % after boiling, roasting and removing inner skin off respectively. These total reduction of 73.96 % AFB₁ were not able to change the flavor.

Keywords: Aflatoxin B₁, peanut, enting-enting, lime, boiling, ELISA

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara produsen dan pengguna kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) terbesar di Asia selain China dan India, hampir 66 % dari 31 juta ton produksi kacang tanah dunia pada tahun 1988 diproduksi sekaligus

dikonsumsi oleh ketiga negara Asia tersebut (Noviandi dkk., 2001). Kondisi produksi dan konsumsi terus meningkat pesat selama enam tahun terakhir ini.

¹ Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Kampus Gunung Kelua, Jl. Pasir Belengkong, Samarinda, Kalimantan Timur 75123

² Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Jl. Sosio Yustisia, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

Kacang tanah dan produknya adalah salah satu bahan pangan yang mendapat banyak perhatian karena mengandung mikotoksin khususnya aflatoksin. Aflatoksin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh strain *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* yang diketahui mempunyai pengaruh yang berbahaya terhadap kesehatan manusia dan hewan, oleh karena bersifat karsinogenik, mutagenik, teratogenik dan immunosupresif. Aflatoksin B₁ (AFB₁) merupakan jenis aflatoksin yang paling sering dijumpai pada biji-bijian seperti kacang tanah dan memiliki toksisitas yang paling tinggi dibandingkan jenis aflatoksin yang lain.

Enting-enting adalah salah satu produk olahan kacang tanah yang memiliki kandungan aflatoksin (AFB₁) di atas standar yang diperbolehkan badan POM (20 ppb) yaitu 144 ppb (Noviandi dkk., 2001). Pengolahan enting-enting pada dasarnya dapat menurunkan cemaran aflatoksin seperti pada tahap penyangraian dan penghilangan kulit ari, tetapi produk enting-enting masih mengandung aflatoksin yang cukup tinggi. Hal ini disebabkan karena bahan baku pembuatan enting-enting, yaitu kacang tanah memiliki kandungan aflatoksin yang tinggi, sehingga perlu dilakukan modifikasi pengolahan dengan perebusan larutan kapur pada bahan dasar (kacang tanah) untuk mereduksi AFB₁.

Kandungan aflatoksin yang tinggi pada enting-enting sangat menarik sebagai bahan kajian dan penelitian lebih lanjut. Akhir-akhir ini banyak dikemukakan bentuk atau metode modifikasi dalam mereduksi kontaminasi aflatoksin B₁ antara lain adalah penggunaan larutan kapur dan penggunaan suhu tinggi. Menurut Price dan Jurgenzen (1985) perendaman dalam air kapur 0,33 % dapat mereduksi aflatoksin 40 – 74 %, sedangkan penggunaan suhu tinggi seperti yang dilakukan Jun-Ho dan Kwang-Geun (2005) pada pembuatan *steamed bread* yang menggunakan suhu 100 °C selama 15 menit dapat mereduksi aflatoksin sampai 43 %.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan produk enting-enting dengan kadar aflatoksin B₁ yang rendah. Selain itu penelitian juga bertujuan untuk mengetahui konsentrasi larutan kapur dan lama perebusan yang optimal sebagai modifikasi pengolahan enting-enting untuk mereduksi kandungan aflatoksin B₁ tanpa mempengaruhi sifat sensoris serta mempelajari pengaruh cara pengolahan enting-enting terhadap penurunan cemaran aflatoksin.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan baku yang digunakan antara lain : kacang tanah, larutan kapur (Ca(OH)₂), isolat *Aspergillus flavus* FNCC 6109 (lab Mikrobiologi-PSPG UGM), medium padat PDA

(*Potato Dextrose Agar*), dan kit ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*).

Preparasi Sampel Kacang Tanah dengan Infeksi *A. flavus*

Kacang tanah dimasukkan kedalam boks plastik, disimpan dalam ruangan bersuhu 30 °C dan diinfeksi spora *A. flavus* yang telah dikembangkan pada PDA agar sebesar 10⁶/ml/kg bahan. Preparasi sampel dianggap selesai setelah didapat kontaminasi AFB₁ pada kacang tanah sebesar 96 ppb.

Pengolahan Enting-enting

Kacang tanah diolah menjadi enting-enting melalui tahap-tahap: perebusan larutan kapur, pencucian, pengeringan dengan sinar matahari, penyangraian, penghilangan kulit ari, pengecilan ukuran dan pencampuran dengan gula yang dikaramelisasi (1:1). Modifikasi pembuatan enting-enting dilakukan dengan perebusan larutan kapur pada bahan dasar (kacang tanah) dengan berbagai konsentrasi (0 %; 0,5 %; 1,5 % dan 2,5 %) dan variasi lama perebusan (0, 10, 15 dan 20 menit).

Analisa ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

Sampel kacang tanah diambil dari awal pasca pengolahan pada tiap tahap pengolahan enting-enting yang dianggap berpotensi menurunkan cemaran AFB₁ yakni perebusan larutan kapur, penyangraian dan penghilangan kulit ari. Sampel diambil sebesar 25 gram, kemudian diekstraksi dengan cara diblender, dilarutkan pada metanol 60 %, dishaker selama 15 menit, 3000 rpm. Uji ELISA dilakukan dengan mereaksikan hasil ekstraksi dengan kit ELISA. Hasil absorbansinya ditera dengan miniphotometer dan dikonversi menjadi kadar AFB₁ melalui kurva standar.

Pengujian Sensoris

Pengujian sensoris dilakukan secara hedonik meliputi rasa, tekstur dan warna sebanyak 20 orang panelis. Skala yang digunakan 1 – 5 yaitu 1 (sangat tidak suka), 2 (tidak suka), 3 (cukup), 4 (suka), dan 5 (sangat suka).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reduksi Aflatoksin B₁ pada Perebusan Larutan Kapur

Kemampuan reduksi AFB₁ pada tahap perebusan larutan kapur pada pembuatan enting-enting ditunjukkan pada Tabel 1. Semakin lama waktu perebusan, semakin tinggi persentase penurunan cemaran aflatoksin B₁. Perebusan selama 20 menit merupakan waktu yang paling lama dan dapat mereduksi cemaran AFB₁ sebesar 47,27 % sampai 49,45 % untuk setiap konsentrasi kapur. Reddy (1996) melaporkan besarnya penurunan cemaran AFB₁ pada kacang rebus yang proses

pembuatannya direbus dengan menggunakan larutan garam selama 15 menit sebesar, yaitu sebesar 33 %. Pada penelitian ini juga terjadi penurunan cemaran AFB₁ sebesar 39,02 % sampai 40,75 % untuk perebusan selama 15 menit.

Tabel 1. Persentase penurunan AFB₁ setelah perebusan larutan kapur dihitung dari kacang kondisi pra pengolahan (96 ppb)

Kadar kapur (%)	Lama perebusan (menit)	pH	Kandungan AFB ₁ setelah perebusan (ppb)	Persentase penurunan AFB ₁ (%)
0	0	TD	96	0 ± 0,00 ^a
	10	TD	82	15,07 ± 1,07 ^b
	15	TD	66	32 ± 1,68 ^c
	20	TD	62	36,1 ± 1,51 ^f
0,5	0	7,4	95	1,07 ± 0,71 ^a
	10	8,0	73	24,3 ± 0,87 ^c
	15	8,1	59	39,02 ± 1,87 ^e
	20	8,2	51	47,82 ± 0,51 ^h
1,5	0	7,5	96	0,00 ± 0,00 ^a
	10	8,2	70	27,62 ± 2,72 ^d
	15	8,2	61	35,6 ± 2,49 ^f
	20	8,3	51	47,27 ± 0,28 ^h
2,5	0	7,8	97	0 ± 0,00 ^a
	10	8,2	66	31,9 ± 1,94 ^c
	15	8,3	57	40,75 ± 0,28 ^e
	20	8,3	49	49,45 ± 2,45 ^h

Keterangan: Huruf yang berbeda dibelakang angka pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P ≤ 0,05)
 TD = Tidak diukur

Hasil analisa varians (Tabel 1.) memperlihatkan bahwa penggunaan konsentrasi kapur pada pembuatan enting-enting terhadap kadar aflatoksin tidak berbeda nyata. Penggunaan konsentrasi kapur yang rendah bila dikombinasikan dengan waktu perebusan yang lama dapat menurunkan cemaran aflatoksin B₁. Mendez dkk. (2002) melaporkan bahwa pa-

da produk makanan yang berbasis jagung (tortilla) yang pada proses pengolahannya menggunakan larutan kapur 1 % sampai 3 % dengan suhu 85 °C selama 70 menit dapat mereduksi aflatoksin B₁ sampai 90 %.

Penggunaan kapur dalam modifikasi pembuatan enting-enting dapat menurunkan cemaran aflatoksin lebih besar dibanding dengan tanpa penggunaan kapur. Hal ini disebabkan karena kapur memiliki pH yang tinggi. Menurut Park dkk. (1988) pH tinggi menyebabkan cincin lakton pada molekul aflatoksin akan terhidrolisa. Dari hasil pengujian pH terhadap konsentrasi kapur dan lama perebusan menunjukkan bahwa makin tinggi konsentrasi kapur yang digunakan pH akan semakin meningkat dan semakin lama waktu perebusan juga akan menaikkan pH, tetapi kenaikan pH pada masing-masing konsentrasi tidak menunjukkan kenaikan yang nyata.

Reduksi Kadar AFB₁ dari Pengolahan Enting-enting

Pada penelitian ini tahapan pengolahan enting-enting dilakukan penyangraian dengan jumlah kacang sekitar 200 gram pada suhu 80 °C selama 5 menit, yang disesuaikan dengan suhu yang umum digunakan oleh beberapa produsen (industri). Pada kondisi ini terjadi penurunan kadar aflatoksin B₁ karena degradasi akibat suhu tinggi yaitu sebesar 40,5 %. Penggunaan suhu tinggi sebagai bentuk pengolahan seperti *roasting* dapat mereduksi aflatoksin 53 % pada *ground pistachio kernel* yang menggunakan suhu 150 °C selama 30 menit merupakan kondisi yang optimal dengan tidak merubah citarasa (Yazdanpanah dkk., 2005). Menurut Moreau dan Moss (1974), bahwa dengan penyangraian kacang tanah pada suhu 150 °C selama 1,5 jam dapat mengurangi 80 % AFB₁.

Penghilangan kulit ari merupakan tahapan dalam proses pengolahan enting-enting yang juga berkontribusi menurunkan kadar aflatoksin B₁ pada kacang tanah. Hal ini terjadi karena aflatoksin B₁ selain terdapat dalam biji kacang, juga terdapat dalam kulit ari. Pada penelitian ini terjadi penurunan AFB₁ sebesar 17,07 %. Penurunan AFB₁ pada penghilangan kulit ari terjadi sebesar 15 % pada sampel enting-enting “Galuh Aji” (Sigit, 2007).

Tabel 2. Persentase penurunan AFB₁ setiap tahapan yang dapat menurunkan cemaran AFB₁ pada pembuatan enting-enting

Tahapan Proses	Tanpa perebusan larutan kapur		Perebusan larutan kapur 0,5% selama 20 menit	
	Kandungan AFB ₁ (ppb)	Persentase penurunan AFB ₁ (%)	Kandungan AFB ₁ (ppb)	Persentase penurunan AFB ₁ (%)
Bahan dasar (kacang tanah)	96	-	96	-
Perebusan larutan kapur	96	0 ± 0,00 ^a	51	47,8 ± 0,52 ^b
Penyangraian	57	40,5 ± 0,46 ^c	30	41,4 ± 1,57 ^c
Penghilangan kulit ari	48	16,5 ± 1,07 ^d	25	17,07 ± 0,93 ^d

Keterangan: Huruf yang berbeda dibelakang angka pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P ≤ 0,05)

Kandungan AFB₁ menurun dari setiap tahapan pengolahan enting-enting yang berpotensi menurunkan cemaran AFB₁. Penurunan terbesar berturut-turut dari tahapan perebusan larutan kapur, penyangraian dan penghilangan kulit ari.

Tabel 2. menunjukkan persentase penurunan cemaran aflatoksin B₁ pada pembuatan enting-enting tanpa perebusan larutan kapur dan perebusan larutan kapur konsentrasi 0,5 % selama 20 menit. Konsentrasi 0,5 % selama 20 menit digunakan karena paling tinggi dalam menurunkan cemaran aflatoksin B₁.

Penilaian Sensoris

Pengujian sensoris dilakukan dengan memilih perlakuan yang tertinggi dalam menurunkan cemaran aflatoksin B₁ secara signifikan dengan membandingkan tanpa perebusan larutan kapur. Berdasarkan penilaian panelis pada tingkat kesukaan untuk produk enting-enting ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Skor penilaian produk enting-enting dari 20 orang panelis terhadap rasa, warna dan tekstur

Produk enting-enting	Skor penilaian		
	Rasa	Warna	Tekstur
Tanpa perebusan larutan kapur	3,8	3,7	3,2
Perebusan larutan kapur 0,5 %, 20 menit	3,5	3,4	3,1

Keterangan : 1 (sangat tidak suka), 2 (tidak suka), 3 (cukup), 4 (suka) dan 5 (sangat suka)

Hasil pengujian sensoris menunjukkan bahwa tingkat kesukaan terhadap rasa, warna dan tekstur pada perlakuan dengan konsentrasi kapur 0,5 % dengan lama perebusan 20 menit dapat diterima oleh panelis. Dengan demikian perlakuan tersebut dapat diaplikasikan dalam pengolahan enting-enting untuk menurunkan cemaran aflatoksin B₁ karena tidak mempengaruhi rasa, warna dan tekstur.

KESIMPULAN

Reduksi AFB₁ pada pembuatan enting-enting yang tertinggi adalah pada proses perebusan larutan kapur yaitu 47,8 %, diikuti proses penyangraian 41,4 % dan penghilangan kulit ari sebesar 17,07 %. Perebusan larutan kapur 0,5 % selama 20 menit adalah yang tertinggi dalam mereduksi AFB₁ pada pembuatan enting-enting tanpa mempengaruhi kualitas sensoris.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian UGM Yogyakarta melalui Project Grand Program Hibah Kompetisi B (PHK-B) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

AOAC. (1925). *Method of Analysis*, Second Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.

Darmawan, A.N. (2005). Penurunan Cemaran Aflatoksin B₁ pada Pengolahan emping Jagung. Thesis S₂ Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Hwang, J.H dan Lee, K.G. (2005). Reduction of aflatoxin B₁ contamination in wheat by various cooking treatments. *Journal Food Chemistry* **98**: 71-75.

Mendez, J.A., Arambula-Villa, G., Loarca-Pina, M.G., Gonzalez Hernandez, J., Castano-Tostado, E. dan Moreno-Martinez, E. (2002). Aflatoxins' fate during the nixmalization of contaminated maize by two tortilla-making processes. *Journal of Stored Products Research* **40** :87-94.

Moreau, C. dan Moss, M. (1974). *Moulds, Toxins and Food*. A Wiley Interscience Publication, Chichester, New York.

Noviandi C.T., Razzazi, E., Agus, A., Bohm, J., Hulan, H.W., Wedhastri, S., Maryudhani, Y. B., Nuryono, Sardjono dan Leibetseder, J. (2001). Natural occurrence of aflatoxin B₁ in some Indonesian food and feed products in Yogyakarta in Year 1998 – 1999, dalam "Mycotoxin Research", Proceeding of the 23rd Mykotoxin-Workshop, part 2, 28-30 May, Society for Mycotoxin Research, Vienna, Austria.

Park, D.L., Price, L.S. dan Pohland, A.E. (1988). Review of decontamination of aflatoxin by ammonocation: current status and regulation. *JAOAC* **71** : 685.

Price, R.L. dan Jorgensen, K.V. (1985). Effect of processing on aflatoxin levels and on mutagenic potential of tortillas made from naturally contaminated corn. *Journal Food Science* **50**:347

Reddy, U. (1996). Aflatoxins – its prevention and detoxification. *Journal Food and Nutrition* **1**(4):1-4.

Samarajewa, U.S., Cohen, A.C., dan Wei, C.L. (1990). De-toxification of aflatoxin in foods and feeds by physical and chemical methods. *Journal Food Protection* **53**: 489-501.

Sigit, K. (2007). Peta Cemarkan Aflatoksin B₁ pada Enting-Enting yang Diproduksi di Daerah Istimewa Yogyakarta. Laporan Skripsi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Yazdanpanah, H., Mohammadi, T., Abouhossain, G. dan Cheraghali, A.A. (2005). Effect of Roasting on Degradation of Aflatoxin in Contaminated Pistachio Nuts. Faculty of Pharmacy. Shaheed Vestí University of Medical Science, Teheran 14155. Iran.