

Potensi *Aspergillus parasiticus* dalam Memproduksi Aflatoxin B₁ pada Tepung Maizena Selama Penyimpanan.

The Potent of Aspergillus parasiticus to Produce Aflatoxin B₁ on the Maize Flour During Storage

Duniaji A.S*, Made Indri Hapsari A dan, NN Puspawati

Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana
Bukit Jimbaran, Badung 80361; Telp/Fax : (0361) 701801

Diterima 23 Pebruari 2016 / Disetujui 08 Maret 2016

ABSTRACT

Aflatoxin B₁ contamination caused by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus Aspergillus flavus* is a great concern in maize production worldwide. *A. parasiticus* infection and aflatoxin B₁ contamination are usually found in maize and their processed during storage, distribution and processing. Aflatoxin B₁ contamination in food and feed can cause the cancer diseases in animal and human.

This research was aimed to determinate the potency of *A. parasiticus* to produce aflatoxin B₁ in maize during storage 0, 5, 10 and 15 days. The research methods was using Completed Random Design (CRD) with three replicated. The research was investigation of a number of colony *A. parasiticus* in Petato Dextro Agar (PDA) and Aflatoxin B₁ content by using Enzym Linked Immunosorbant Assay (ELISA).

Result of research showed that *A.parasiticus* were susceptible to grow in maize flour and produce aflatoxin B₁ during storage. The population of *A. parasiticus* in maize flour were 9.5×10^5 d in primary storage (0 days) that was the total colony were increasing $.7 \times 10^6$ (storage 5 days), 2.5×10^7 (storage 10 days) and 1.5×10^8 cfu/g with storage 15 days

A. parasiticus was a potent to produce aflatoxin B₁ in myzena flour with total of aflatoxin B₁ is 66.50 ppb of mayzena flour during storage 5 days , 46.40 ppb with 10 days storage, 57.00 ppb during storage 15 days and was not found in 0 days.

Keywords: *Aspergillus parasiticus*, Aflatoxin B₁, maize flour

*Korespondensi Penulis:
Email: adunijai@yahoo.com

PENDAHULUAN

Di Indonesia jagung merupakan komoditas penting sebagai bahan pangan, dan pakan serta produk olahannya, misal tepung maizena. Menurut Syarief *et al.* (2003), salah satu masalah yang dihadapi industri pangan di daerah tropik adalah terdapatnya aflatoksin pada bahan baku pangan. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Dharmaputra (2000), bahan baku jagung untuk tepung maizena dapat terkontaminasi oleh aflatoksin.

Di Indonesia jagung yang baru dipanen biasanya mempunyai kadar air tinggi (30%) sehingga apabila tidak segera dikeringkan, maka berbagai kapang dapat berkembang, termasuk kapang *A. parasiticus*. Menurut Pakki and Muis (2007) *A. parasiticus* dapat ditemukan pada tanaman jagung fase vegetative dan fase generatif, serta pada pasca panen jagung, sehingga menjadi sumber inokulum pada biji jagung yang akan disimpan.

A. parasiticus merupakan kapang perusak bahan pangan pada jenis kacang-kacangan dan sereal, serta produk olahannya. Serangan *A. parasiticus* dapat terjadi sejak komoditi tersebut ada dilapangan, saat pemanenan dan setelah pemanenan terutama pada daerah yang beriklim tropis (Dunaji dkk., 2009).

A. parasiticus merupakan kapang penghasil aflatoksin seperti aflatoksin B1, B2, G1 dan G2, sementara *A. flavus* sebagai penghasil aflatoksin B1 dan B2 (Mariella *et al.*, 2002). Aflatoksin merupakan metabolit sekunder yang bersifat toksik. Diantara ke empat jenis aflatoksin tersebut aflatoksin B1 memiliki

efek toksik yang paling tinggi. Aflatoksin ini bersifat karsinogenik, mutagenik dan hepatotoksik (Herman dan Walker, 2001), sehingga menjadi perhatian badan kesehatan dunia (WHO) dan dikategorikan sebagai penyebab karsinogenik golongan 1. Selain itu aflatoksin juga bersifat immunosuppresif yang dapat menurunkan sistem kekebalan tubuh (Boutrif, 1997; Dunaji dan Subarjati, 2002).

Kontaminasi kapang pada bahan tepung sulit dibedakan oleh konsumen karena warna miselium kapang yang tumbuh pada tepung menyerupai warna putih tepung dan perubahan warna miselium serta spora kapang dengan mudah dapat dibedakan. Akibat kontaminasi ini akan berdampak pada produksi aflatoksin B1 yang tidak terlihat dengan kasat mata dan berbahaya bagi kesehatan manusia. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian mengenai potensi *A. parasiticus* dalam memproduksi aflatoksin B1 pada tepung maizena selama penyimpanan.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana dan Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana.

Bahan

Kultur murni *A. parasiticus* di peroleh dari laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Tepung maizena dibeli di pasar Badung Kota Denpasar.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini mempergunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Data dianalisis dengan uji BNT (Steel and Torrie, 1993). Percobaan dalam penelitian ini di lakukan ulangan sebanyak 3 kali. Pada penelitian ini dilakukan penyimpanan tepung maizena selama 15 hari dengan mengamati pertumbuhan *A. parasiticus* dan kandungan aflatoksin B₁ pada hari ke 0, 5, 10 dan 15 hari Pada Penelitian ini *A. parasiticus* diinokulasikan pada masing-masing sampel tepung maizena yang sebelumnya sudah dilakukan sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dan selanjutnya dilakukan penyimpanan pada suhu ruang.

Persiapan Suspensi Spora

Biakan murni *A. parasiticus* diremajakan pada media patato Dextro Agar (PDA) di dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu ruang. Selanjutnya diambil satu oze dan dipindahkan pada media PDA di dalam tabung reaksi serta diinkubasi selama 6 hari pada suhu ruang. Kultur induk *A. parasiticus* ini kemudian diambil satu oze untuk dimasukkan ke dalam 10 ml aquades steril. Sebanyak masing-masing 1 ml selanjutnya dibuat suspensi dalam aquades steril untuk dibuat seri pengenceran dari 10⁻¹ sampai pengenceran 10⁻⁴. Dari seri pengenceran tersebut, suspensi dari pengenceran 10⁻⁴ disiapkan untuk diinokulasikan ke dalam sampel yang akan diuji masing-masing sebanyak 1 ml.

Perlakuan Sampel

Tepung maizena masing-masing sebanyak 50 g dari 12 sampel ditempatkan di dalam cawan Petri dan disterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, sampel didinginkan dan diinokulasi 1 ml x 10⁴ Cfu/ml *A. parasiticus*. Masing-masing sampel diinkubasi pada suhu 30°C selama 0, 5, 10, dan 15 hari. Pengamatan dilakukan terhadap populasi *A. parasiticus* dan kandungan aflatoksin B₁ setelah 0, 5, 10, dan 15 hari masa penyimpanan. Untuk setiap lama penyimpanan dibuat tiga kali ulangan.

Penentuan Populasi *Aspergillus parasiticus*

Masing-masing 10 g dari 12 sampel ditimbang dan ditambahkan aquades steril 90 ml, kemudian dilakukan penyaringan dan filtratnya ditampung di dalam labu Erlenmeyer 250 ml. Filtrat ini selanjutnya diencerkan dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁸. Sebanyak 0.1 ml suspensi dari masing-masing pengenceran ditumbuhkan dengan cara disebar pada cawan petri (diameter 12 cm) yang berisi media PDA, kemudian cawan petri diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 30°C. Populasi *A. parasiticus* diamati dengan menghitung koloni yang tumbuh pada masing-masing cawan petri dengan coloni counter.

Penentuan Kandungan Aflatoksin B₁ (Chinaphutti, 2012)

Penentuan kandungan aflatoksin B₁ dilakukan dengan metode ELISA (Enzym linked Immunosorbant Assay) (Ridascreen Fast aflatoxin B₁ Test Kit, 2010).

Bahan pada cawan Petri yang telah diaduk diambil 10g masing-masing ditambahkan metanol:air (70:30), dihomogenkan dengan cara diblender selama 3 menit. Kemudian disaring dengan kertas wahattman No 2. Sebanyak 1 ml Filtrat ditampung dengan mikrotube dan ditambahkan 1 ml aquades steril.

Masing-masing larutan standar aflatoksin (0, 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 dan 2,0 ppb) dan sampel dipipet sebanyak 50 ul, dimasukkan ke dalam masing-masing wells. Wells yang telah berisi standar dan sampel masing-masing ditambahkan enzim konjugate untuk setiap wells sebanyak 50 ul dan dicampur dengan baik, kemudian disimpan selama 30 menit pada suhu ruang dan ruang gelap. Cairan pada wells selanjutnya dibuang ke luar dengan menghentakan pada kertas tisu bersih dan dicuci dengan aquades steril sebanyak 4 kali.

Substrat A mengandung 3,3',5, 5'-Tetramethylbenzidine 0,4 g/l dalam basa organik dan substrat B mengandung 0,02% H₂O₂ dalam buffer asam sitrat. Substrat A dan B dicampur 30 menit sebelumnya. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 100 ul ke dalam wells dicampur dengan baik dan disimpan selama 5 menit pada ruang gelap.

Larutan penghenti reaksi mengandung 0,01 M asam fosfat sebanyak 100 ul selanjutnya ditambahkan ke dalam masing-masing wells. Kegiatan selanjutnya pembacaan absorbansi pada microwells dengan ELISA Reader pada panjang gelombang 450 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi *Aspergillus parasiticus*

Hasil penelitian menunjukkan bawa populasi *Aspergillus parasiticus* bervariasi pada tepung maizena selama penyimpanan 0, 5, 10 dan, 15 hari pada suhu 30°C disajikan pada Tabel 1.

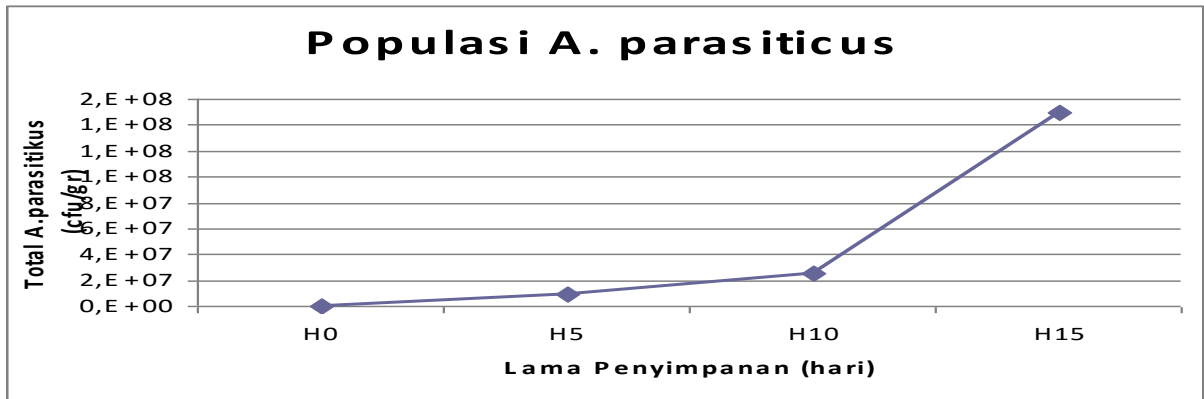
Populasi *A. Parasiticus* pada tepung maizena meningkat dengan semakin lamanya penyimpanan (Tabel 1, Gambar 1). Populasi *A. Parasiticus* pada awal penyimpanan adalah sebesar 9.5×10^5 cfu/g, selanjutnya setelah 5, 10 dan 15 hari penyimpanan berturut-turut adalah 8.7×10^6 , $2,5 \times 10^7$ dan $1,5 \times 10^8$ cfu/g. Kapang *Aspergillus* spp memerlukan substrat yang sesuai dengan kebutuhan pertumbuhannya. Kapang *Aspergillus parasiticus* selama pertumbuhannya memerlukan unsur carbon (C) yang ada dalam bahan pangan. Kapang *Aspergillus* mampu tumbuh pada bahan pangan yang mengandung kadar gula tinggi dan juga kebanyakan bahan makanan mengandung kadar air walaupun dalam kadar yang cukup rendah (Dunaiji, 2009; Bankole, *et al.*, 2005) Cemaran kapang pada bahan biji-bijian menyebabkan penurunan viabilitas, perubahan warna, kehilangan bobot, kontaminasi mikotoksin, dan kerusakan total sehingga berpengaruh terhadap kadar toksin pada bahan pangan tersebut (Dharmaputra 2004).

Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa populasi *A. parasiticus* pada tepung maizena selama penyimpanan 0, 5, 10 dan 15 hari mengalami peningkatan. *A. parasiticus* pada tepung maizena selama 15 hari penyimpanan populasinya adalah sebesar $1,5 \times 10^8$ cfu/g.

Tabel 1. Populasi *Aspergillus parasiticus* pada tepung maizena selama penyimpanan (cfu/g)

Penyimpanan (hari)	Populasi <i>A. Parasiticus</i> (Cfu/g)
0	9.5 x 10 ⁵ d
5	8.7 x 10 ⁶ c
10	2.5 x 10 ⁷ b
15	1.5 x 10 ⁸ a

Keterangan : huruf yang sama di belakang rerata pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada taraf kesalahan 5%.

Gambar 1. Populasi *A. parasiticus* pada Maizena

Populasi *A. parasiticus* pada tepung maizena semakin meningkat dengan makin lamanya penyimpanan. Pertumbuhan sebagian besar dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya komposisi substrat, kadar air, kelembaban relatif (RH), temperatur, dan kehadiran mikroorganisme kompetitor (Mishra dan Das, 2003). Kandungan nutrisi pada tepung maizena antara lain karbohidrat sebesar 85,0 g/100 g bahan, protein 0,3 g/100 g bahan dan lemak 0 g/100 g bahan. Karbohidrat merupakan nutrisi yang paling banyak terkandung pada maizena dan dianggap penting bagi pertumbuhan *A. parasiticus*. Dapat diketahui bahwa pada proses pertumbuhan terjadi proses pemecahan dan penggunaan energi. Pada proses ini

terjadi penyusutan zat-zat organik seperti gula-gula serhana (Dharmaputra, 2000).

Kandungan Aflatoksin B₁

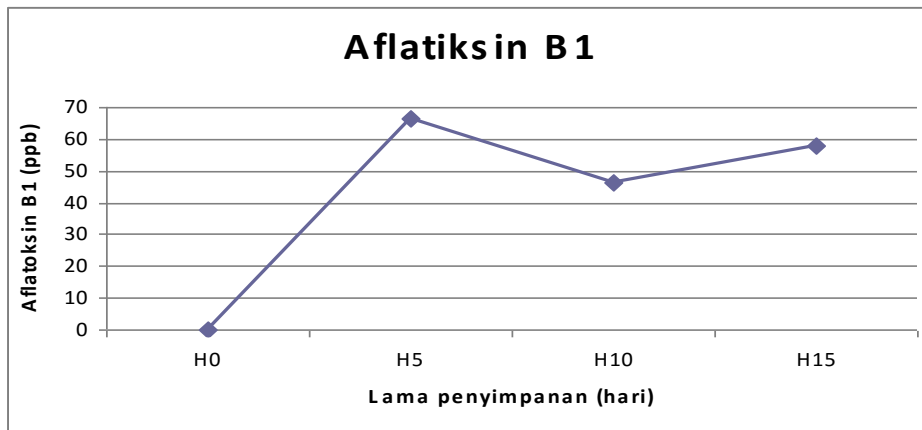
Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tepung maizena terdapat variasi kandungan aflatoksin B₁ yang dihasilkan selama masa penyimpanan 0, 5, 10 dan, 15 hari. Kandungan aflatoksin B₁ pada tepung maizena sebagai media tumbuh berkisar dari 46.40 ppb - 66.50 ppb. Kandungan aflatoksin B₁ selama penyimpanan disajikan pada Tabel 2.

Pada tepung maizena juga terjadi variasi kandungan aflatoksin B₁ selama penyimpanan. Setelah 5 hari penyimpanan kandungan aflatoksin B₁ mencapai 66.50 ppb dan mengalami penurunan pada masa penyimpanan

Tabel 2. Kandungan Aflatoksin B₁ pada tepung maizena selama penyimpanan.

Penyimpanan (hari)	Aflatoksin (ppb)
0	0 d
5	66.50 a
10	46.40 c
15	57.80 b

Keterangan : huruf yang sama di belakang rerata pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada taraf kesalahan 5%.

Gambar 2. Kandungan aflatoksin B₁ pada maizena

mencapai 10 hari yaitu menjadi 46.40 ppb. Peningkatan kandungan aflatoksin B₁ terjadi kembali pada masa penyimpanan mencapai 15 hari yaitu sebesar 57.80 ppb. Kandungan aflatoksin B₁ pada tepung maizena selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 2.

Produksi toksin bergantung pada substrat tempat kapang tumbuh. Kehadiran organisme lain yang bersaing dapat menyebabkan kapang kehilangan potensinya untuk menghasilkan toksin (Williams 2004; Tuberose 2008). Secara alamiah, sejumlah kapang menghasilkan mikotoksin selama proses metabolismenya. Namun Tidak semua kapang dapat menghasilkan mikotoksin, dan sejumlah kapang menghasilkan toksin yang berbahaya bagi kesehatan.

Kandungan aflatoksin B₁ dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya pertumbuhan *A. parasiticus*, kesesuaian substrat dan intraksi *A. parasiticus* dengan lingkungannya (Bankole dan Mabekoje, 2004). Duniaji dkk., (2009), menyatakan tidak ada korelasi antara populasi *A. parasiticus* dengan kandungan aflatoksin B₁. *A. parasiticus* yang tumbuh bukan merupakan faktor penentu kandungan aflatoksin B₁ yang diproduksi. Aflatoksin B₁ merupakan metabolit sekunder yang diproduksi di awal fase pertumbuhan stationer yang diawali dengan menurunnya komponen metabolit primer (Heatcote dan Hibbert, 1978). Mikotoksin bersifat racun bagi manusia; beberapa di antaranya sangat beracun

sehingga bila dikonsumsi dalam jumlah sedikit dapat berakibat fatal. Spesifitas dan potensi mikotoksin untuk sel target, struktur sel atau proses sel bergantung pada spesies dan strain toksin dari kapang yang menghasilkannya (Bankole *et al* 2006).

KESIMPULAN

Populasi *A. parasiticus* yang paling tinggi pada tepung maizena adalah sebesar $1,5 \times 10^8$ cfu/g pada masa penyimpanan 15 hari, sedangkan yang paling rendah adalah $9,8 \times 10^5$ cfu/g selama masa penyimpanan 0 hari. *A. parasiticus* memproduksi Aflatoksin B1 tertinggi pada tepung maizena pada masa penyimpanan 5 hari yaitu 66,50 ppb, sedangkan terendah pada masa penyimpanan 10 hari yaitu sebesar 46,40 ppb serta tidak ditemukan pada masa penyimpanan 0 hari

Saran

Dari hasil penelitian ini dapat disarankan pentingnya dilakukan pengawasan terhadap kandungan aflatoksin B1 pada bahan makanan yang ada dipasaran terutama berbagai jenis tepung sebagai bahan baku pada makanan olahan.

DAFTAR PUSTAKA

Bankole, S.A. and Mabekoje, O.O. 2004. Occurrence of aflatoxins and Fumonisin in Preharvest Maize from southwestern Nigeria. Food additive and Contaminants, 21, 251-255

Bankole S.A., B.M. Ogunsanwo, A. Osho, G.O. Adewuyi. (2005) Fungal contamination and aflatoxin B1 of egusi melon seeds in Nigeria. Department of Microbiology, Olabisi Onabanjo University, PMB 2002, Ago-Iwoye, Ogun State, Nigeria. Department of Chemical Sciences, Olabisi Onabanjo University, PMB 2002, Ago-Iwoye, Ogun State, Nigeria. Food Control xxx (2005) xxx-xxx

Boutrif, E. 1997. Prevention of Mycotoxin in Pistachios. Division food quality and standard service, FAO food and nutrition, Pistachios '97 conference, Rome, Italy. Pp 1-12

Dharmaputra, O. S. 2000. Micotoxins in Indonesia Foods and Feeds. National Seminar, Current issues Food Safety and Risk Assessment. Organized by International Life Science Institute (ILSI) Southeast ILSI Science Institute, Ministry of Health-Indonesia, Bogor Agricultural Institute, In Collaboration with Food and Agriculture Organization of the United Nation.

Dharmaputra, O.S. 2004. Control of Storage fungi. Training Course on Prevention and Control of Mycotoxin in Food and Feedstuff. SEAMEO BIOTROP, Bogor, Indonesia, 21- 26 June 2004. 17 pp.

Duniaji, A.S dan Subarjati, I. 2002. Deteksi Aflatoksin dengan Menggunakan Metode Enzym Linked Immunosorbant Assay (ELISA) Disajikan pada Seminar PATPI bekerjasama dengan Universitas Brawijaya Malang.

- Duniaji A.S, I G P Tengah, O. Pardita. 2009. The influence of garlic extract in various solvent on the growth of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxin B1. In the International conference "Biotechnoly for a Sustainable Future" 15-16 Sep 2009 Udayana University
- Duniaji.A.S.. 2009. Pemberian kalsium hidroksida sebagai penghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan pgaruhnya terhadap nutrisi kacang tanah (*Arachis hypogea*) .Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian (Agritrop) 28 (1): 22-29 (2009)
- Duniaji, A.S. 2009. Detection of aflatoxin B1-Induced Cancer in several fried peanut products. "3rd Internaional Workshop on Food Functional Clinical Research" 19 Sept 2009
- Heatcote J.G and J.R. Hibbert. 1978. Aflatoxin: Chemical and Biological Aspect Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam-Oxford. New York. P. 3-179
- Herman, J.L. and R. Warker. 2001. Risk Analysis of Mycotoxinby The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive(JECFA). International Prgram on Chemical Safety, World Health Organisation, Genewa Switzerland Pp 1-12
- Mislivec, P.B., L.R. Benchad and M.A. Cousin. 1999. Yeast and Mold. Confendium of Methods for The Microbiological Examination of Food. Third Ed. American Public health Association Washington. 818p
- Mariella E.M. Kuilman-Wahls 1, Monica S. V, Lilian N.T, Roel F.M. M, Johanna F.G (2002). Cyclopiazonic acid inhibits mutagenic action of aflatoxin B1. Department of Veterinary Pharmacology, Pharmacy and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, PO Box 80152, 3508TD Utrecht, The Netherlands. Environmental Toxicology and Pharmacology 11 (2002) 207–212
- Mishra, H.N. and C. Das. 2003. A review on biological control and metabolism of aflatoxin. **Critical Rev. Food Sci. Nutrit.** 43(3):245-264.
- Pakki, S. dan Muis, A. 2007. Patogen Utama jagung Setelah Padi Rendengan di Lahan Sawah Tadah hujan. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan. 26(1):55-61.
- Saad, N. 2001. Aflatoxin Occurrence and health Riosk. An Undergraduate Sstudent cornell University for the AS625 Class. Animal Science at Cornell University. P 1-10
- Syarief, R., La Ega, C.C.Nurwitri. 2003. Mikotoksin Bahan Pangan. IPB Press. 390 hlm
- Steel, D.G. dan James H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistik. PT. Gramedia Pustaka Utama
- Williams, J. 2004. Top Ten Toxic Fungi Infested Foods. <http://ezinearticles.com/?op-Ten-Toxic-Fungi-Infested-Foods&id=102859> [30 April 2008].