

Antisipasi Keberadaan Mikotoksin: Aflatoksin dan Okratoksin A pada Kakao dan Olahannya

by Tarsisius Dwi Wibawa Budianta

Submission date: 02-Jul-2022 12:25PM (UTC+0700)

Submission ID: 1865672573

File name: pasi_Keberadaan_Mikotoksin_format_padang_gadang_genap_ganjil.pdf (1.7M)

Word count: 4787

Character count: 28063

Antisipasi Keberadaan Mikotoksin: Aflatoksin dan Okratoksin A pada Kakao dan Olahannya

T. Dwi Wibawa Budianta¹⁾ dan Teguh Wahyudi²⁾

¹⁾ Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

²⁾ Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember

Abstrak

Mikotoksin adalah metabolit sekunder yang diproduksi jamur, yang keberadaannya perlu diantisipasi karena merupakan senyawa dengan sifat beracun bagi manusia dan hewan. Diantara beberapa mikotoksin pada kakao dan produk olahannya, aflatoksin (AF) dan okratoksin A (OTA) menjadi perhatian yang utama, disebabkan keberadaan dan sifat toksisitasnya yang sangat tinggi. Aflatoksin diproduksi oleh *Aspergillus* terutama *Aspergillus flavus* dan *A. Parasiticus*, mempunyai sifat hepatotoksik, teratogenik, mutagenik dan karsinogenik. Mikotoksin OTA digolongkan sebagai senyawa yang nefrotoksik, bersifat karsinogenik, immunosupresif, dan teratogenik. Sumber penghasil OTA adalah spesies jamur patogen tanaman antara lain *Aspergillus*, dan *Penicillium*, namun penghasil utama adalah *Aspergillus ochraceus* dan *A. Carbonarius*. Kesulitan untuk dapat memprediksi kontaminasi mikotoksin dalam produk hasil pertanian, disebabkan keberadaan mikotoksin tergantung pada interaksi berbagai faktor intrinsik dan ekstrinsik, antara lain kadar air, temperatur, RH, jenis produk, spesies fungi endogen, kondisi proses, kondisi penyimpanan, waktu penyimpanan, kondisi dan waktu transit. Mengingat keberadaan mikotoksin menyebabkan produk kakao dan olahannya tidak aman untuk dikonsumsi, maka antisipasi perlu dilakukan oleh semua pihak yang terkait. Keberadaan mikotoksin dapat dicegah melalui strategi penanganan pra-panen, selama panen, dan pasca panen, menggunakan sistem penjaminan mutu. Apabila mikotoksin sudah terlanjur ada pada produk kakao dan olahannya maka tindakan detoksifikasi dapat segera dilaksanakan. Detoksifikasi dapat dilakukan antara lain menggunakan metode fisis (menggunakan sinar gamma), metode kimiawi (menggunakan perlakuan alkali), metode mikrobiologis (menggunakan enzim *carboxypeptidase A*, lipase, dan *metalloenzyme*). Apabila produk masih tercemar mikotoksin, maka pencegahan aktifitas OTA harus dilakukan. Dikarenakan OTA dikenal sebagai penyebab kerusakan membran sel melalui peningkatan proses peroksidasi lipida, maka untuk menghambat aktivitasnya digunakan senyawa yang bersifat antioksidan. Senyawa yang digunakan antara lain polifenol, tokoferol dan retinol.

Kata kunci: *antisipasi, pencegahan, detoksifikasi, karsinogen, aflatoksin, okratoksin, antioksidan*

1. PENDAHULUAN

Kakao merupakan ingredien yang penting dalam berbagai makanan misal pada cake, biskuit, makanan anak-anak, es krim, dan permen. Biji kakao dari buah tanaman *Theobroma cacao* merupakan bahan baku pembuatan kakao bubuk. Meskipun kondisi proses penyimpanan dan pengolahan sudah dikontrol secara ketat, namun masih terdapat titik kritis pada rantai produksi kakao yang mungkin terkontaminasi jamur. Selama proses fermentasi dan setelah proses fermentasi kakao adalah tahapan awal terjadi cemaran jamur. Jamur genera *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, dan *Rhizopus* telah diamati pada biji kakao yang telah difermentasi karena penanganan yang tidak tepat atau salah selama proses pengolahan.

Spesies *Aspergillus* adalah jamur yang paling banyak diisolasi dari sampel minuman yang berbahan baku kakao bubuk (Oyetunji, 2006). Beberapa jamur terutama spesies *Aspergillus* dan *Penicillium* memproduksi mikotoksin yang dapat menyebabkan intoksikasi akut ataupun kronis yang bersifat merusak bagi manusia setelah menyerap (*ingestion*) makanan yang terkontaminasi (Marasas and Nelson, 1987; Moss, 1996). Diantara beberapa mikotoksin, aflatoksin (AF) dan okratoksin A (OTA) menjadi perhatian yang utamapada kakao, disebabkan keberadaan dan sifat toksisitasnya yang sangat tinggi (Sanchez-Hervas *et al*, 2008). Di beberapa negara telah dilakukan pengaturan jumlah mikotoksin yang diijinkan untuk berbagai macam

produk. *Commission of the European Communities* (2001), menetapkan batas maksimum AF dan OTA pada bahan baku pengolahan kakao dan produk jadi, berturut-turut 2 µg dan 1 µg. Aflatoksin diproduksi oleh *Aspergillus* terutama *Aspergillus flavus* dan *A. Parasiticus*, mempunyai sifat hepatotoksik, teratogenik, mutagenik dan karsinogenik. Aflatoksin yang berada secara alami adalah B1, B2, G1 dan G2, dan aflatoksin B1 (AFB1) adalah yang paling berbahaya dan terdaftar sebagai karsinogen group I oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC, 1982) dan menunjukkan sifat karsinogenik pada manusia (Castegnaro and Wild, 1995), bahkan Galvano *et al.* (2005), mengkategorikannya sebagai *hidden killer* karena potensi bahayanya yang tinggi. Selain aflatoksin, *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus tamarii* dilaporkan memproduksi *cyclopiazonic acid* (CPA) (Horn, 2007). CPA ini mikotoksin yang merupakan penghambat spesifik *calcium-dependent ATPase* yang beracun pada manusia dan hewan. Okratoksin A (OTA) adalah mikotoksin yang menyebabkan efek nephrotoksik dan berhubungan dengan Balkan Endemic Nephropathy (Abouzied *et al.*, 2002). Hal ini diperkuat oleh Bragulat *et al.*, 2008; bahwa efek *nephrotoxic*, immunogenik, karsinogenik dan teratogenik pada sel manusia dan hewan telah dibuktikan dan didokumentasikan dengan baik. Pada dekade ini diketahui bahwa spesies *Aspergillus* hitam (seksi *Nigri*), seperti *Aspergillus carbonarius* merupakan sumber OTA yang mengkontaminasi kopi, buah anggur dan

produk pertanian lain (Battilani and Pietri, 2002; Abarca *et al.*, 2003; Pardo *et al.*, 2004; Iamanaka *et al.*, 2005; Magnoli *et al.*, 2006 dan Magnoli *et al.*, 2007). Keberadaan OTA pada kakao, bubuk kakao, dan produk olahan kakao yang dipasarkan telah dilaporkan dari berbagai negara (Burdaspal and Suarda, 2003; Bonhevi, 2004; Tafuri *et al.*, 2004; Amezueta *et al.*, 2005; Brera *et al.*, 2005)

2. KEBERADAAN AFLATOKSIN DAN OKRATOKSIN A PADA BIJI KOKOA

2.1. Kontaminasi Jamur pada biji kakao (Sanches-hervas, *et al.*, 2008)

Penelitian mengenai mikrobiota yang berada pada biji kakao (Sanches-hervas, *et al.*, 2008), mendapat perhatian khusus disebabkan oleh spesies jamur yang potensial menghasilkan mikotoksin. Jamur yang dominan dari genus *Aspergillus* *flavi* dan *A. Nigri*. Mikrobiota dominan pada biji kakao termasuk pada genera *Aspergillus* seksi *Flavi* (terdapat 214 strain, dari 51% total strain yang ada) dan seksi *Nigri* (138 strain, dari 32,8% total strain yang ada), berperan sebesar 83,8% dari 420 strain jamur yang ada.

2.2. Produksi Aflatoksin dan OTA pada biji kakao

Kemampuan *A. flavus* dalam memproduksi Aflatoksin (AF), *cyclopiazonic acid* (CPA) dan okratoksin A (OTA) terdapat pada Tabel 1, Tabel 2, dan Tabel 3 berikut:

Tabel 1. Keberadaan dan kemampuan memproduksi mikotoksin dari strain *A. Flavus* yang diisolasi dari biji kakao.

Spesies	Total strain (%)	AF positive strains (AF range in ng/g)			
		Total (%)	B1	B2	G1 G2
<i>A. flavus</i>	120 (29)	77 (64.1)	35(20-3500)	65(0.5-250)	15(50-2500) 8 (2-12)

Sumber: Sanches-hervas, *et al.*, 2008.

Dari 214 strain *Aspergillus* seksi *Flavi* dikumpulkan dari biji kakao, 120 diidentifikasi sebagai *A. Flavus* dan 94 sebagai *A. Tamarii*. Dari Tabel 1. dapat dijelaskan bahwa dari 120 strain *A. flavus*, diuji yang mempunyai kemampuan untuk menghasilkan aflatoksin pada medium YES. Sebanyak 77 isolat (64,1%) adalah strain

yang mampu menghasilkan aflatoksin, 35 isolat mampu menghasilkan aflatoksin B1 (konsentrasi 203500 ng/g) dan 65 isolat mampu menghasilkan aflatoksin B2 (konsentrasi 0,5-250 ng/g), 15 isolat mampu memproduksi aflatoksin G1 (konsentrasi 50-2500 ng/g), serta 8 isolat mampu

memproduksi aflatoksin G2 (konsentrasi 2-12 ng/g).

Tabel 2. Keberadaan *Aspergillus* seksi *Flavi* yang diisolasi dari biji kakao dan kemampuannya memproduksi CPA

Species	Total strains (%)	CPA positive strains (%)	CPA produced ($\mu\text{g/g}$)	
			Range	Mean
<i>A. flavus</i>	120 (29)	41 (34.2)	33.3–240.7	121.7
<i>A. tamarii</i>	94 (22)	92 (98)	28.6–253.3	96.5

Sumber: Sanches-hervas, *et al*, 2008

Tabel 2 menunjukkan kemampuan *Aspergillus* spp yang diisolasi dari biji kakao untuk memproduksi CPA. Sebanyak 214 strain *Aspergillus* yang termasuk seksi *Flavi* juga diuji kemampuannya untuk memproduksi CPA dalam CZ medium. Sebanyak 92 strain dari *A. tamarii* (98% dari 94 yang diuji) dan 41 strain dari *A. flavus* (34.2% dari 120 yang diuji) adalah mampu memproduksi CPA dalam CZ medium. Hampir semua strain *A. Tamarii*

menghasilkan kandungan CPA yang tinggi berkisar antara 28.62 hingga 253.3 $\mu\text{g g}^{-1}$ medium. Kemampuan memproduksi CPA oleh strain *A. Flavus* sama kasusnya dengan kemampuan strain *A. tamarii* dengan level CPA berkisar antara 33.3 $\mu\text{g g}^{-1}$ hingga 240.7 $\mu\text{g g}^{-1}$. Sejumlah 138 strain *aspergillus* hitam diuji kemampuannya untuk menghasilkan OTA pada medium CYA. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3. berikut:

Tabel 3. Keberadaan *Aspergillus* hitam yang diisolasi dari biji kakao dan kemampuannya memproduksi okratoksinA (OTA)

Species	Total strains (%)	Ocratoxigenic strains (%)	OTA produced ($\mu\text{g/g}$)	
			Range	Mean
<i>A. niger</i> aggregate	132	59 (44.7)	0.5–90	11.52
<i>A. carbonarius</i>	6	6 (100)	0.2–8	2.15

Sumber: Sanches-hervas, *et al*, 2008

Dari Tabel 3 tersebut diketahui sebanyak 65 isolat (47.1% dari 138 yang diuji) mampu memproduksi OTA. Sebanyak 59 strain positif memproduksi OTA adalah kelompok *A. niger* agregat (44.7% dari 132 yang diuji), sedangkan 6 strain sisanya dikelompokkan sebagai *A. carbonarius* (100% dari 6 yang diuji). Kadar OTA yang diproduksi *A. niger* agregat dan *A.*

carbonarius berturut-turut adalah berkisar antara 0.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ hingga 90 $\mu\text{g g}^{-1}$ dan 0.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ hingga 8 $\mu\text{g g}^{-1}$. Dari kenyataan tersebut di atas membuat kita harus bersiap-siap mengendalikan pertumbuhan jamur dan produksi mikotoksin pada biji kakao yang diproduksi di wilayah kita, mengingat kondisi lingkungan yang cocok untuk tumbuh dan berkembangnya jamur.

2.3. Isolasi beberapa spesies pada tahapan prosesing yang berbeda

Copetti (2010) melakukan kajian aktivitas air dari proses pemetikan hingga

Tabel 4. Perbedaan aktivitas air biji kakao pada berbagai tahapan proses di kebun.

Tahapan (Stage)	Jumlah Sampel	Aktivitas Air (Water activity)	
		Rerata	Kisaran
Sebelum fermentasi	25	0.99	0.99–0.98
Fermentasi	51	0.99	0.99–0.98
Pengeringan	81	0.81	0.99–0.49
Penyimpanan	65	0.67	0.85–0.40

penyimpanan di gudang. Selama proses tersebut terjadi penurunan aktivitas air yang sangat signifikan sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4. berikut:

Dengan kondisi aktivitas air yang demikian masih memungkinkan tumbuhnya jamur dan diproduksinya OTA. Sebanyak 271 jamur yang termasuk jamur spesies *Aspergillus* yang potensial menghasilkan OTA diisolasi dari kakao mentah selama tahapan pengolahan dari kebun, dan diidentifikasi sebagai *A. carbonarius*, *A. niger* aggregate, *A. ochraceus*, *A. melleus* and *A. westerdijkiae*. Sedangkan *P. Verrucosum* tidak ditemukan (Tabel 5.). Sebelum fermentasi, tidak ada spesies yang

mampu memproduksi OTA pada buah kakao, baik yang sehat/bagus atau luka/memar. Selama fermentasi hanya beberapa agregat *A. Niger* ditemukan, tetapi peningkatan jumlah OTA ditemukan pada tahapan proses selanjutnya (Tabel 6). Selama pengeringan menggunakan sinar matahari, ditemukan perkembangan perubahan yang besar dan jumlah spesies yang mampu menghasilkan OTA ditemukan. Selama penyimpanan, peningkatan *A. niger* aggregate dan *A. Carbonarius* ditemukan.

Tabel 5. Isolation frequency (IF) dari spesies jamur ochratoxigenic dan incidence of infected biji kakao pada tahapan proses yang berbeda^a.

	Fermentasi		Pengeringan		Penyimpanan	
	(51 sampel)		(81 sampel)		(65 sampel)	
	IF (%)	RI (%)	IF (%)	RI (%)	IF (%)	RI (%)
<i>Aspergillus carbonarius</i>	1.96	0-3	3.70	0-24	7.81	0-66
<i>A. niger</i> aggregate	3.92	0-9	14.8	0-48	26.15	0-51
<i>A. ochraceus</i>	0	0	2.47	0-3	0	0
<i>A. melleus</i>	0	0	2.47	0-6	3.13	0-3
<i>A. westerdijkiae</i>	0	0	2.47	0-6	0	0

^aIF = isolation frequency % (number of samples contained a fungal species/ total of samples evaluated, %); RI = range of infection % (range of infected beans in a sample, %).

Pada penyimpanan, baik jumlah sampel OTA yang positif dan tingkat kontaminasi dalam jumlah yang sama dengan yang diperoleh

selama drying (Table 6). Dari 221 sampel yang dianalisa hanya dua yang mempunyai nilai OTA melebihi 2 µg/kg.

Tabel 6. Kontaminasi Ochratoxin A (OTA) pada biji kakao pada tahapan proses yang berbeda

Tahapan/ jumlah sampel yang dievaluasi		OTA > LOD n (%)	OTA > 2 µg/kg n (%)	OTA (µg/kg)		
				Max.	Median	Mean
Sebelum fermentasi	25	0 (0%)	0 (0%)	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Fermentasi	51	14 (27%)	0 (0%)	1.70	< 0.01	0.05
Pengeringan sinar matahari	81	41 (51%)	1 (1%)	5.54	0.01	0.13
Penyimpanan	65	33 (52%)	1 (2%)	4.64	0.02	0.10

^aLimit of detection (LOD): 0.01 µg/kg; method mean recovery: 90.8%. Sumber: Copetti (2010)

2.3. OTA pada kakao by-products

Copetti (2012) meneliti tingkat okrratoxin A pada cocoa by-products

(Table 7.), hasil menunjukkan kontaminasi yang lebar, namun dengan kontaminasi yang rendah.

Tabel 7. Keberadaan OTA dalam produk samping (by-product) kakao.

Matrix	Sampel	Sampel Positif (%)	Mean concentration $\pm$ SD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Concentration range ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Shell	19	19 (100%)	1.13 $\pm$ 1.28	0.13-2.01
Nib	29	24 (83%)	0.10 $\pm$ 0.12	<LOD-0.38
Mass	25	25 (100%)	0.34 $\pm$ 0.21	0.03 - 1.09
Butter	25	20 (80%)	0.03 $\pm$ 0.02	<LOD-0.06
Cake	26	26 (100%)	0.97 $\pm$ 0.73	0.03 -3.18
Cocoa powder	16	16 (100%)	1.42 $\pm$ 1.29	0.05-5.13
Alkalized cocoa powder	28	28 (100%)	0.90 $\pm$ 0.78	0.14-3.59

SD: Standard deviation. LOD: 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Sumber: Copetti (2012)

Sebanyak 168 sampel dari cocoa by-products diperiksa 158 (94.05%) menunjukkan keberadaan OTA (LOD= 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Produk cocoa butter merupakan produk yang mempunyai konsentrasi terendah (0.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$), berbeda jauh dengan yang ditemukan dalam cocoa cake 0.97 $\mu\text{g}/\text{kg}$, padahal keduanya berasal dari cocoa mass (0.34 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Hal ini kemungkinan selama tahapan proses pengempaan (hydraulic pressing step), sebagian besar toksin tertinggal (*adhered to*) pada fraksi cocoa tanpa lemak. Sebaliknya, kontaminasi tertinggi ditemukan pada cocoa powder (5.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$) dan dengan kandungan rata-rata 1.42

$\mu\text{g}/\text{kg}$, merupakan fraksi yang paling banyak terkontaminasi. Kontaminasi pada alkalized cocoa powder menunjukkan rata-rata kontaminasi yang lebih kecil (0.90 $\mu\text{g}/\text{kg}$), menunjukkan pengaruh proses alkalisasi dalam reduksi kontaminasi okratoksin A. Proses alkalisasi merupakan proses yang penting untuk mendapatkan cocoa powder dengan cara yang berbeda dan tahapan ini juga mempengaruhi dispersibilitas partikel dalam liquid. Reduksi kandungan Okratoksin A (OTA) ditunjukkan pada proses pengolahan coklat (Tabel 8), sebesar 93.6% kandungan okratoksin berkurang selama proses pembuatan coklat.

Tabel 8. Kontaminasi Ochratoxin A pada biji kakao sebelum dan setelah roasting dengan persentase reduksinya

Sampel	Ochratoxin A $\pm$ SD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Range ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Reduksi Ochratoxin A (%)
Unroasted beans	9.46 $\pm$ 0.80	8.76 – 10.8	-
Roasted shell	6.53 $\pm$ 0.37	6.11 – 7.12	-
Roasted nibs	1.36 $\pm$ 0.21	1.15 – 1.69	85.7
Cocoa mass	0.96 $\pm$ 0.04	0.91 -1.03	89.9
Chocolate	0.61 $\pm$ 0.03	0.58 – 0.66	93.6

SD: Standard deviation.

Berdasarkan kandungan okratoksin A setelah roasting dan pada komposisi biji dapat diperkirakan kurang lebih 16.6% toksin dihancurkan melalui penggunaan panas dengan temperatur 150 °C yang diaplikasikan selama 40 menit, yang menyebabkan temperatur dalam biji sekitar 90 °C.

Percobaan ini menunjukkan setelah proses roasting, sebanyak 82.9% okratoksin A tinggal pada kulit buah (*shell fraction*), yang harus dihilangkan menggunakan proses winnowing (hingga residu kandungan kulit maksimum 1-1.5% pada biji)

3. PENCEGAHAN MIKOTOKSIN DALAM KOKOA SECARA PREVENTIF (PENANGANAN DEKONTAMINASI KAKAO)

Menurut Amezqueta *et al.* (2009), pencegahan mikotoksin melalui 3 strategi, yaitu strategi selama pra panen (*Good Agricultural Practices*), selama panen dan pasca panen (*Good Handling Practices and Good Manufacturing Practices*); yang masing-masing mempunyai cara penanganan yang berbeda spesifik sesuai kondisi penanganan dan lingkungan masing-masing. Masing-masing kegiatan dilakukan dalam satu rangkaian proses dalam sistem penjaminan mutu.

3.1. Strategi selama pre-harvest (pra panen)

Kondisi yang berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur selama di kebun (*farming*), pemanenan (*harvesting*) dan penyimpanan adalah temperatur, kadar air, dan lamanya waktu pada kondisi yang tidak sesuai. Faktor kritis yang mempengaruhi kontaminasi jamur dan produksi mikotoksin pada biji kakao selama penyimpanan meliputi kadar air, temperatur, kerusakan mekanis dan terdapatnya gas seperti CO₂ dan O₂ (Sinha, 1993 *dalam* Teguh, 2003). Hal tersebut sangat penting dalam pengendalian di kebun hingga produk siap diolah. Tanaman di daerah tropis seperti di Indonesia banyak dipengaruhi lingkungan yang menstimulasi produksi jamur (temperatur tinggi, kelembaban dan curah hujan.) Pada kasus ini penerapan *Good Agricultural Practices* (GAP) adalah menghindari kontak peralatan pekerja yang dipakai dengan tanah, cuci secara bersih peralatan yang dipakai, kurangi kerusakan mekanis dan kontrol *the threat of plagues* (FAO, 1999). Begitu tanaman terkontaminasi oleh jamur yang merusak maka tanaman harus segera diproteksi dari kerusakan mekanis dan kegiatan insekta. Penggunaan bahan kimia merupakan strategi yang menarik untuk mencegah produksi mikotoksin, misalnya penggunaan fungisida. Namun demikian ternyata aktivitas *in vitro* dari *epiphytic yeast* untuk *A. carbonarius* dan *A. niger* dapat menjadi biokontrol pada tanaman buah anggur (Bleve *et al.*, 2006) mungkin dapat pula diaplikasikan pada kakao, sedangkan

substansi yang efektif untuk pengendalian pertumbuhan jamur dan produksi OTA adalah natamycin (Medina *et al.*, 2007).

3.2. Strategi selama panen

Kinerja yang baik dan peralatan panen yang bersih merupakan rekomendasi untuk strategi selama panen, (merupakan bagian *Good Handling Practices*). Panen harus dilaksanakan ketika kandungan air tanaman pada kondisi optimal, kalau tidak akan menyebabkan kerusakan mekanis. Sedapat mungkin hanya buah yang matang yang dipetik dan dimasukkan ke wadah yang bebas dari kontaminan. Buah yang kelewat masak, terfermentasi, luka memar atau rusak, dan yang jatuh ke tanah harus disingkirkan, karena kemungkinan mempunyai kandungan mikotoksin yang tinggi atau memicu jamur bertumbuh dan propagasi, serta memproduksi mikotoksin (Codex Alimentarius Commission, 2003, Amezqueta *et al.*, 2009). Setelah dipetik, buah kakao difermentasi dan selanjutnya dikeringkan. Pada dasarnya proses fermentasi memacu penurunan jamur karena keberadaan yeast dan mengurangi pulp kakao sebagai substrat jamur yang baik. Pada proses ini tempat kerja dan peralatan yang digunakan harus bersih dan terkontrol dengan baik untuk mencegah fermentasi eksternal.

3.3. Strategi setelah panen

Pencegahan melalui pengelolaan pra panen merupakan metoda terbaik untuk mengendalikan kontaminasi mikotoksin; namun demikian apabila kontaminasi terjadi tepat setelah fase ini, maka bahaya toksin harus dikendalikan melalui penanganan pasca panen yang baik. Pada tahapan ini, penyimpanan (*storage*) dan pengolahan (*processing*) merupakan kegiatan utama yang dapat mencegah kontaminasi mikotoksin. Pada penyimpanan biji kakao Teguh *et al.* (2003), telah melakukan penelitian mencari pengaruh kandungan CO₂ pada biji kakao yang disimpan selama sebulan terhadap kandungan Aflatoksin, dengan hasil untuk Aflatoksin B1 adalah sebagai berikut:

Tabel 9. Pengaruh Konsentrasi CO₂ pada penyimpanan biji kakao selama satu bulan terhadap Kandungan Aflatoksin B1 (ppb)

Perlakuan	Kandungan Aflatoksin B1 (ppb)			
	Kadar air 7%	Kadar air 11%	Kadar air 15%	Rerata
Kontrol	0,328 a	0,265 a	0,391 a	0,328 a
40%CO ₂	0,140 b	0,091 b	0,087 b	0,094 b
60%CO ₂	0,092 b	0,092 b	0,089 b	0,091 b
80%CO ₂	0,091 b	0,096 b	0,089 b	0,092 b
Rerata	0,154	0,136	0,164	

Sumber: Teguh *et al.*, 2003.

Dari tabel di atas terlihat bahwa penggunaan CO₂ memberikan pengaruh kandungan aflatoksin B1 berbeda nyata pada kadar air yang bervariasi dibandingkan dengan kontrol.

Apabila masih terdapat mikotoksin pada tahapan ini, maka dapat dilakukan detoksifikasi menggunakan perlakuan kimiawi, fisis atau mikrobiologis; sebelum produk dikonsumsi.

4. DETOKSIFIKASI MIKOTOKSIN PADA KOKOA DAN OLAHANNYA

Strategi detoksifikasi mikotoksin OTA, diklasifikasikan pada tipe perlakuannya yaitu fisis (*physycal*), kimiawi (*chemical*) atau mikrobiologis dan tujuannya yaitu mengurangi atau mengeliminasi efek beracun mikotoksin melalui menghancurkan, mengubah, atau menyerap mikotoksin tersebut (FAO/WHO/UNEP, 1999a). Metode detoksifikasi yang ideal adalah yang mudah dilakukan dan ekonomis, dan tidak menimbulkan komponen toksis baru atau mengurangi parameter kualitas pangan yang lain seperti kandungan gizinya (EMAN, 2004). Perlakuan fisis dengan pemanasan tidak dapat mengeliminasi keberadaan OTA (Boudra, *et al.*, 1995). Penggunaan pembekuan (-20°C) dilanjutkan *defrost* pada suhu 26°C dan perlakuan dengan radiasi sinar gamma dapat menghentikan pertumbuhan konidia jamur. Namun demikian hanya radiasi sinar gamma yang dapat menghancurkan mikotoksin (Aziz *et al.*, 2004). Perlakuan kimia untuk detoksifikasi mikotoksin OTA dengan bahan adsorben antara lain adalah menggunakan *cholestyramine*, sodium dan kalsium aluminium silikat (disebut juga zeolit), bentonite, dan arang aktif; dapat dilakukan namun dalam prakteknya banyak nutrisi penting yang hilang, sehingga penggunaan bahan tersebut tidak banyak diaplikasikan dalam produk kakao dan olahannya. Penerapan yang aman dapat dilakukan

sebagaimana perlakuan pada kopi menggunakan *ethyl asetat*, *dichlorometan* dan *formic acid*, serta *methylene chlorida* dapat mengurangi level OTA. Penelitian oleh Amezcua *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa 98% OTA yang terdapat pada kakao dapat dieliminasi menggunakan larutan alkali. Perlakuan yang lain yang disarankan adalah metode ozonisasi, yang terbukti dapat menghilangkan mikotoksin pada biji-bijian, kacang-kacangan dan sayuran. Metode mikrobiologis yang disarankan adalah penggunaan enzim *carboxypeptidase A* yang mempunyai kemampuan menghancurkan OTA dan penggunaan strain *atoxigenic A. Niger* sebagai sumber karboksi peptidase dan lipase. Karboksi peptidase yang terdapat pada *Phaffa rhodozyma* dapat mendegradasi OTA mencapai 90% (Péteri *et al.*, 2007). Lebih lanjut, bakteri yang termasuk golongan *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Butyribrio*, *Phenyllobacterium*, *Pleurotus*, *Saccharomyces*, *Bacillus* dan *Acinetobacter* (Fuchs *et al.*, (2008), Varga *et al.*, (2005) dan (Varga *et al.*, 2000), dan jamur tertentu yang masuk golongan atau genera *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. carbonarius*, *A. japonicus*, *A. versicolor*, *A. wentii* dan *A. ochraceus*), *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Phaffia*, *Penicillium* and *Rhizopus* (*R. stolonifer* and *R. oryzae*) (Abrunhosa *et al.*, 2002; Péteri *et al.*, 2007;

Varga *et al.*, 2005) dapat mendegradasi OTA *in vitro* mencapai lebih 95%. Dan terlebih lagi, beberapa dari kelompok tersebut

menunjukkan sifat detoksifikasi pada percobaan *in vivo* (Fuchs *et al.*, 2008).

5. REDUKSI KANDUNGAN MIKOTOKSIN MENGGUNAKAN ANTIOKSIDAN ALAMI

Penambahan rempah-rempah kelompok jahe *Zingiberace* dari Nigeria yaitu dari *Aframomum danielli*, dapat mengurangi

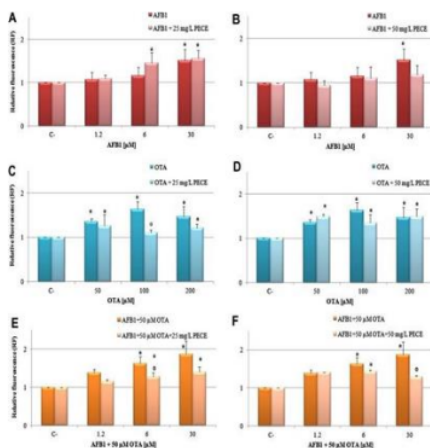
OTA dalam bubuk kakao (Aroyeun, 2012). Penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 10. Pengaruh penambahan *A. danielli* pada Reduksi Kandungan OTA bubuk kakao

Bubuk kakao+ <i>Aframomum danielli</i>	Kandungan OTA dalam sampel bubuk kakao (ng/g)	Batas kandungan OTA kakao bubuk menurut EU (ng/g)	% perubahan OTA (dibandingkan dengan batas EU)
0	2,63	2	24% lebih tinggi
40000 ppm	2,50	2	20% lebih tinggi
60000 ppm	2,22	2	9,9% lebih tinggi
80000 ppm	1,86	2	9% lebih rendah

Sumber: Aroyeun (2012)

Efisiensi penurunan OTA oleh *A. danielli* terjadi disebabkan oleh keberadaan oleuropin dan beberapa hasil hidrolisisnya (Adegoke *et al.*, 2000b), dan hal ini sudah didahului dengan laporan bahwa pengurangan aflatoksin B1 dapat dilakukan dengan o-vanillin, klorogusinol, *pyrocatechol*, dan oleuropin (Cowan, 1963 dalam Aroyeun 2012).



Gambar 1. Pengaruh PECE pada AFB1 dan OTA

Fanenlli *et al.* (1989), juga melaporkan bahwa beberapa antioksidan secara kuat menghambat aflatoksin yang diproduksi oleh *Aspergillus parasiticus*. Adegoke *et al.* (2000a), juga menguatkan penemuan ini

ketika *Aframomum danielli* digunakan untuk mengurangi produksi Aflatoksin B1. Pengurangan produksi OTA pada percobaan Areyoun (2012) tampaknya juga dipengaruhi oleh aktivitas antioksidan dari asam kafeat yang terkandung dalam *A. danielli* (Adegoke *et al.*, 2002). Pada kakao terdapat banyak senyawa yang bersifat antioksidan yaitu senyawa polifenol antara lain katekin. Corcuera (2012) melakukan percobaan menggunakan ekstrak kakao yang diperkaya dengan polifenol PECE (*polyphenol-enriched cocoa extract*) untuk mengetahui pengaruhnya terhadap mikotoksin Aflatoksin B1 dan OTA, dengan hasil bahwa PECE dapat meningkatkan viabilitas sel dan secara signifikan menurunkan jumlah ROS (*reactive oxygen species*) dalam sel yang dicemari (dikontaminasi) dengan OTA atau campuran AFB1 + OTA. Dari Gambar 1. Diketahui ROS yang diinduksi pada Hep G2 dari AFB1, OTA dan campuran AFB1 + 50 µM OTA dan efek perlindungan dari PECE (25 atau 50 mg/L) selama 24 jam melawan mikotoksin. Induksi ROS untuk tiap perlakuan dibandingkan dengan the basal level (C-) ($p \leq 0.05$). Reduksi ROS signifikan yang terjadi pada pretreatment dengan PECE ditunjukkan dengan pemberian simbol ° dengan $p \leq 0.05$. (Sumber: Corcuera, 2012).

6. PENAMBAHAN ADITIF PANGAN YANG MEMPUNYAI PENGARUH PERLINDUNGAN MELAWAN RACUN MIKOTOKSIN OTA

Karena diketahui bahwa mikotoksin khususnya OTA menyebabkan kerusakan membran sel melalui peningkatan peroksidasi lipida, maka sifat protektif dari senyawa antioksidan diteliti. Sifat ini yang memungkinkan antioksidan mampu bertindak sebagai penangkal anion superoksida (*superoxide anion scavengers*), yang akan melindungi membran sel dari kerusakan karena mikotoksin. Pada

percobaan *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa melatonin, rosmarinic acid, alfa tokoferol, retinol, asam askorbat, 1-methionine, aspartam, polifenol dapat melawan beberapa pengaruh racun OTA (Amezqueta *et al.*, 2009). Substansi lain yang dapat mengurangi kerusakan sel oleh mikotoksin antara lain adalah roxazyme-G, biji sesame (wijen), air ekstrak dari *artichoke* dan 1-beta-phenylalanine (Stoev *et al.*, 2002).

7. PENUTUP

Dari uraian di atas dapat disimpulkan bahwa penanganan secara utuh dalam rantai produksi kakao dan olahannya, dapat mengurangi keberadaan mikotoksin pada kakao dan olahannya. Penanganan selama di kebun (pra panen dan panen) apabila dilakukan dengan baik dapat mencegah kontaminasi jamur dan produksi mikotoksin. Proses fermentasi dan pengeringan yang tepat dapat mengurangi jumlah aflatoksin dan okratoksin pada kakao, dan proses ini merupakan antisipasi sebagai kunci utama pencegahan. Penyimpanan biji kakao menggunakan CO₂ dapat mengendalikan keberadaan jamur dan mikotoksin. Detoksifikasi mikotoksin merupakan upaya terakhir sebelum produk dikonsumsi, melalui

cara fisis (*physycal*), kimiawi (*chemical*) atau mikrobiologis. Sedangkan reduksi mikotoksin yang dapat dilakukan pada produk yang akan dikonsumsi adalah dengan menambah senyawa antioksidan alami. Selain hal tersebut, penambahan aditif pangan dapat juga mengurangi pengaruh racun mikotoksin. Untuk menjaga keamanan produk kakao dan olahannya maka sudah selayaknya disiapkan aturan dalam bentuk suatu standar yang dapat melindungi konsumen dari bahaya mikotoksin, dan diberikan petunjuk teknis bagi semua pihak tentang pencegahan keberadaan mikotoksin pada produk kakao dan olahannya (secara khusus) dan pada produk pertanian (pada umumnya).

DAFTAR PUSTAKA

- Amezqueta S., E. Gonzalez-Penas, M. Murillo, A. Lopez de Cerain, 2005. *Occurrence of ochratoxin A in cocoa beans: effect of shelling*. Food Additives and Contaminants, 22 (6) (2005), pp. 590–596
- Amézqueta S., E. González-Peñas, M. Murillo, A. López de Cerain, 2009. *Ochratoxin A decontamination: A Review*. Food Control, 20 (2009) Issue 4, pp. 326–333
- Aroyeun S.O., G.O. Adegoke, Varga J., Teren J., Karolyi P., Kuschbe S., and Valgvolgyi C., 2011. *Potential of Aframomum danielli spice powder in reducing ochratoxin A in cocoa powder*. American Journal of Food Nutrition, 2011, 1 (4) pp:155-165
- Bleve G., F. Grieco, G. Cozzi, A. Logrieco, A. Visconti, 2006. *Isolation of epiphytic yeast with potential for biocontrol of Aspergillus carbonarius and A. niger on grape*. International Journal of Food Microbiology, 108 (2006), pp. 204–209
- Bonvehí J.S., 2004. *Occurrence of ochratoxin A in cocoa products and chocolate*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (20) (2004), pp. 6347–6352
- Bragulat, M.R., E. Martinez, G. Catella and F.J. Cabanes, 2008. *Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus Penicillium from foodstuffs*. Int. J. Food Microbiol., 126:43–48
- Brera C., F. Debegnach, B. De Santis, E. Iafrate, E. Pannunzi, C. Berdini *et al.*. *Ochratoxin A in cocoa and chocolate products from the Italian Market: occurrence and exposure assessment*. Food Control, 22 (2011), pp. 1663–1667

- Burdaspal A., T.M. Legarda., 2003. *Ochratoxina A en distintos tipos de chocolate y preparados de cacao en polvo comercializados en España y en otros países extranjeros*. Alimentaria, 347 (2003), pp. 143–153
- Commission of the European Communities., 2001. *EC regulation 466/01*. Official Journal of the European Union L, 77/1 (2001) (16.03.2001)
- Copetti M.V., J.L. Pereira, B.T. Iamanaka, J.I. Pitt, M.H. Taniwaki. *Ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in cocoa during farm processing*. International Journal of Food Microbiology, 143 (2010), pp. 67–70
- Copetti M.V., B.T. Iamanaka, J.L. Pereira, J.C. Frisvad, M.H. Taniwaki. *Mycobiota of cocoa: from farm to chocolate*. Food Microbiology, 28 (2011), pp. 1499–1504
- Copetti M.V., B.T. Iamanaka, J.L. Pereira, M.H. Fungaro, M.H. Taniwaki. *Aflatoxigenic fungi and aflatoxin in cocoa*. International Journal of Food Microbiology, 148 (2) (2011), pp. 141–144
- Copetti M.V., B.T. Iamanaka, M. A. Nester, P. Efraim, M. H. Taniwaki, *Occurrence of ochratoxin A in cocoa by-products and determination of its reduction during chocolate manufacture*. Food Chemistry 30 July 2012. <http://203.72.145.156:2073/10.1016/j.foodchem.2012.07.093>
- Copetti M.V, B.T. Iamanaka, J.L. Pereira, D.P. Lemes, F. Nakano, M.H. Taniwaki. *Occurrence of ochratoxin A and aflatoxins in chocolate marketed in Brazil*. Food Control, 26 (2012), pp. 36–41
- Copetti M.V., B.T. Iamanaka, J.L. Pereira, D.P. Lemes, F. Nakano, M.H. Taniwaki. *Determination of aflatoxins in by-products of industrial processing of cocoa beans*. Food Additives and Contaminants, 29 (2012), pp. 972–978
- Galvano, F.A. Ritieni, G. Piva, and Pietri, 2005. *Mycotoxins in The Human Food Chain*. Nottingham Univ.Press, UK: 187–224
- Marasas W.F.O., P.E. Nelson., 1987. *Mycotoxicology*. Pennsylvania State University, University Park, PA (1987)
- Medina A., M. Jiménez, R. Mateo, N. Magan, 2007 b.. *Efficacy of natamycin for control of growth and ochratoxin A production by Aspergillus carbonarius strains under different environmental conditions*. Journal of Applied Microbiology, 103 (2007), pp. 2234–2239
- Moss M.O., 1996. *Mycotoxins*. Centenary review. Mycological Research, 100 (1996), pp. 513–523
- Oyetunji T.O., *Mycological evaluation of a ground cocoa-based beverage*. African Journal of Biotechnology, 5 (2006), pp. 2073–2076
- Ringot D., Abalo Chango^a, Yves-Jacques Schneider, Yvan Larondelle, 2006. *Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update*. ChemicoBiological Interactions, 159(2006) pp 18–46
- Sanchez-Hervas M, J.V. Gil, F. Bisbal, D. Ramon, P.V. Martínez-Culebras, 2008. *Mycobiota and mycotoxin producing fungi from cocoa beans*. International Journal of Food Microbiology, 125 (2008), pp. 336–340
- Stoev S.D., D. Djuvinov, T. Mirtcheva, D. Pavlov, P. Mantle. *Studies on some feed additives giving partial protection against ochratoxin A toxicity in chicks*. Toxicology Letters, 135 (2002), pp. 33–50
- Tafari A., R. Ferracane, A. Ritien. *Ochratoxin A in Italian marketed cocoa products*. Food Chemistry, 88 (2004), pp. 487–494
- Teguh W., S.Jinap, A.R. Rusly, and Z. Hasan, 2003. *Effect CO₂ Rich Atmospheres on the Growth of Aspergillus flavus and Aflatoxin Production During Cocoa Bean Storage*. Asean Food Journal 12(2):115–125

Antisipasi Keberadaan Mikotoksin: Aflatoksin dan Ochratoxin A pada Kakao dan Olahannya

ORIGINALITY REPORT

15%

SIMILARITY INDEX

9%

INTERNET SOURCES

14%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

- 1

Marina V. Copetti, Beatriz T. Iamanaka, Melanie A. Nester, Priscilla Efraim, Marta H. Taniwaki. "Occurrence of ochratoxin A in cocoa by-products and determination of its reduction during chocolate manufacture", Food Chemistry, 2013

Publication

5%
- 2

Marina V. Copetti, José Luís Pereira, Beatriz T. Iamanaka, John I. Pitt, Marta H. Taniwaki. "Ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in cocoa during farm processing", International Journal of Food Microbiology, 2010

Publication

4%
- 3

www.worldcocoafoundation.org

Internet Source

4%
- 4

Susana Amézqueta, Elena González-Peñas, María Murillo-Arbizu, Adela López de Cerain. "Ochratoxin A decontamination: A review", Food Control, 2009

Publication

1%

5

repo.unand.ac.id

Internet Source

1 %

6

www.tandfonline.com

Internet Source

1 %

7

stpakambon.wordpress.com

Internet Source

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches < 10 words

Exclude bibliography On