

**REDUKSI KANDUNGAN AFLATOKSIN B₁ (AFB₁) PADA PEMBUATAN KACANG
TELUR MELALUI PEREBUSAN DALAM LARUTAN KAPUR
(REDUCTION OF AFLATOXIN B₁ (AFB₁) CONTENT IN THE EGG PEANUT BY
BOILLING IN LIME SOLUTION)**

Yuliana Tandil Rubak¹ dan Suryana Purawisastra²

ABSTRAK

Latar belakang: Efek berbahaya dari aflatoksin B₁ bagi manusia adalah toksisitasnya sebagai senyawa karsinogenik. Toksin ini diproduksi oleh *Aspergillus flavus*, yang biasanya tumbuh pada sereal dan kacang-kacangan. Akibatnya sereal dan kacang-kacangan tersebut serta produknya bisa terkontaminasi oleh toksin ini. Kacang telur merupakan salah satu produk kacang tanah yang banyak dikonsumsi. Karena itu, kacang telur harus bebas toksin. Menurut informasi pustaka, salah satu cara untuk menghilangkan toksin ini adalah modifikasi proses pembuatan kacang telur. Artikel ini menyajikan hasil penelitian untuk menghilangkan aflatoksin kacang telur melalui perendaman bahan baku kacang tanah dalam larutan kapur 0,5 persen dan 1 persen selama 10 menit. **Metodologi:** Membuat dua jenis produk kacang telur, satu produk berbahan baku kacang yang telah dikontaminasi aflatoksin dan satu produk lagi berbahan baku kacang utuh tidak terkontaminasi aflatoksin. Produk pertama untuk menguji pengaruh perebusan dalam larutan kapur terhadap kandungan aflatoksin. Sedangkan produk kedua untuk menguji pengaruh perebusan dalam larutan kapur terhadap cita rasa. Kedua produk dibuat melalui proses yang sama, bahan kacang mendapat perlakuan perendaman dalam larutan kapur konsentrasi 0,5 persen dan 1,5 persen selama 10 menit, kemudian dilanjutkan dengan proses seperti umumnya membuat kacang telur. Kandungan aflatoksin dianalisis dengan metoda ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*).

ABSTRACT

Background: The harmful effect of aflatoxin B₁ for human being because of its toxicity, as carcinogenic agent. The toxin is produced by the *Aspergillus flavus* which usually grows in grain and nuts. As the result that the grain, nuts and their product contaminated by the toxin. Egg peanut is one of peanut products which are widely consumed by the peoples. Consequently the egg peanut should be not containing the toxin. The modification of process of making peanut is one way to eliminate the toxin. **Objectives:** To eliminate the aflatoksin B₁ content in the product of egg peanut through the preparation of raw peanuts by boiling the peanut in the boiled lime solution. The concentration of the lime solution in this research was 0.5 percent, and 1.5 percent for 10 minutes. **Methods:** There were two kinds of peanut egg, one was made from the raw peanuts which were already contaminated by the aflatoxin, and another one from the raw peanuts was not contaminated. The first product was to observe the influenced of boiling in the lime solution of peanuts to the content of aflatoxin. The second product was to observe the influenced of boiling in the lime solution of peanuts to the sensory of peanut eggs. Aflatoxin analysis was carried out by ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). **Results:** The result of research showed that the preparation of the raw peanuts by boiling in lime solution was able to reduce the content of aflatoxin in peanut eggs. The percentage of reduction was increased by increasing the concentration of lime solution. In this study, the reduction of aflatoxin for the peanuts which was boiled in the 0.5 percent of lime solution was 27.8 percent. The reduction was increased becoming 29.5 percent when the peanuts boiled in the 1.5 percent of lime solution. The roasting of the peanut increased 44 percent the reduction of aflatoxin content. **Conclusion:** The modification process of making the egg peanut by boiling in lime solution could reduce the aflatoxin content, whereas the sensory of peanuts was not affected. The reduction content of aflatoxin was depending on the concentration of lime solution. **[Penel Gizi Makan 2011, 34(1): 21-28]**

Keywords: *Aflatoxin B₁, peanuts, eggs peanut, lime solution, ELISA*

¹ Pengajar Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Nusa Cendana, Kupang, NTT

² Peneliti Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik, Badan Litbang Kesehatan, Kemenkes RI

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara produsen dan konsumen kacang tanah (*Arachis Hypogaea* L.) terbesar di Asia, selain China dan India. Hampir 66 peren dari 31 juta ton produksi kacang tanah dunia pada tahun 1988 diproduksi sekaligus dikonsumsi oleh ketiga negara Asia tersebut.¹

Kacang tanah merupakan substrat yang cocok bagi pertumbuhan jamur *Aspergillus* yang menghasilkan mikotoksin, yaitu aflatoksin. Aflatoksin merupakan produk metabolit sekunder yang dihasilkan *strain* toksigenik *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* dan *A. Nomius*.² Aflatoksin sangat berbahaya bagi kesehatan karena jamur ini berefek karsinogenik, khususnya berhubungan dengan kanker hati. Jenis

Survei cemaran aflatoksin pada kacang tanah yang diproduksi di Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur (NTT), yang dilaporkan Rubak dkk,⁶ menunjukkan bahwa 15 persen dari 60 sampel petani terkontaminasi aflatoksin di atas ambang batas yang diperbolehkan, yaitu < 20 ppb.⁷

Adanya produk olahan komoditas jagung dan kacang tanah yang masih mengandung aflatoksin cukup tinggi tersebut menjadi bukti bahwa proses pengolahan yang diterapkan belum mampu mereduksi kandungan cemaran aflatoksin secara nyata. Berbagai penelitian telah dilakukan sebagai usaha detoksifikasi aflatoksin pada pengolahan pangan, baik secara fisik, kimiawi maupun biologis. Detoksifikasi secara fisik pada proses pengolahan makanan yang mampu mereduksi aflatoksin B₁ adalah *roasting*, *steaming*, *heating*, dan *cooking*.^{8,9} Sementara detoksifikasi secara kimia, yaitu dengan penggunaan senyawa kimia seperti klorin (sodium hipoklorit, gas klorin), hidrogen peroksida, ozon, sodium bisulfit, kalsium hidroksida, asam asetat, gas ammonia atau garam ammonia, terbukti mampu mendetoksifikasi aflatoksin.^{10,11} Detoksifikasi secara biologis melibatkan penggunaan organisme seperti bakteri dan jamur.^{12,13}

Salah satu bentuk atau metode modifikasi dalam mereduksi kontaminasi aflatoksin B₁ pada produk olahan antara lain dengan penggunaan larutan kapur dan penggunaan suhu tinggi. Menurut Price dan Jurgenzen,¹⁴ perendaman air

aflatoksin B₁ (AFB₁) merupakan komponen yang paling berpotensi sebagai hepatokarsinogen, serta dapat menyebabkan kerusakan genetik pada janin, terhambatnya pertumbuhan dan kecerdasan anak pada masa pertumbuhan.³

Aflatoksin banyak ditemukan dalam komoditas biji-bijian dan kacang-kacangan, seperti kacang tanah dan jagung, umumnya ditemukan di negara beriklim tropis seperti Indonesia. Kontaminasi aflatoksin pada bahan pangan, seperti jagung dan kacang tanah serta produk olahannya, telah dilaporkan oleh banyak peneliti dan umumnya terkontaminasi aflatoksin B₁ dengan kandungan melebihi batas toleransi aman.^{4,5}

kapur 0,33 persen dapat mereduksi aflatoksin 40—74 persen, sedangkan penggunaan suhu tinggi seperti yang dilakukan Jun-Ho dan Hwang-Geun¹⁵ pada pembuatan *steamed bread*, yang menggunakan suhu 100°C selama 15 menit, dapat mereduksi aflatoksin sampai 43 persen.

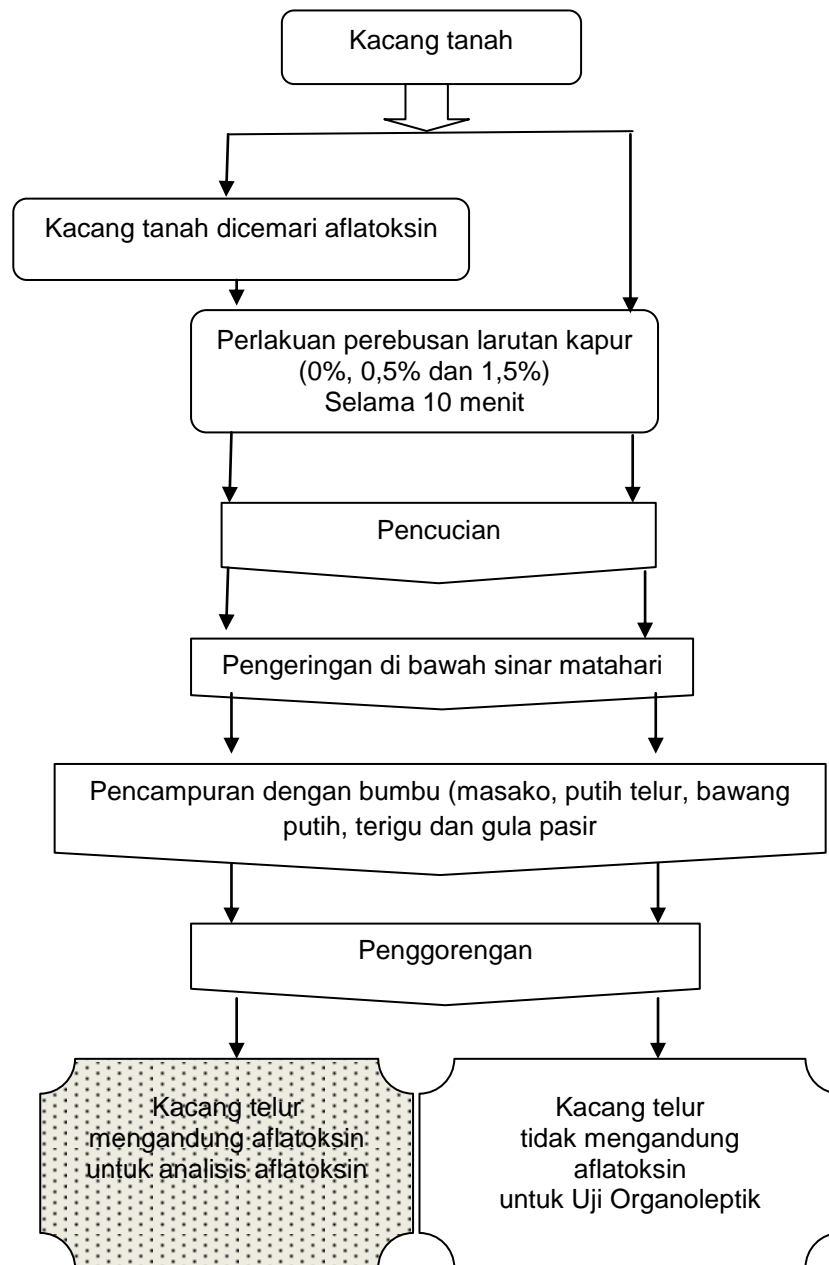
Kacang telur merupakan produk olahan kacang tanah yang banyak dibuat dan sangat digemari oleh masyarakat. Penelitian ini bertujuan memodifikasi tahap-tahap pembuatan kacang telur dengan perebusan bahan baku kacang di dalam larutan kapur untuk mendapatkan produk kacang telur dengan kadar aflatoksin B₁ yang rendah tanpa memengaruhi sifat sensoris kacang telur yang dihasilkan.

BAHAN DAN CARA

Bahan baku yang digunakan adalah kacang tanah, larutan kapur (Ca(OH)₂). Isolat *Aspergillus flavus* FNCC 6109 dari Lab Mikrobiologi PSPG UGM, medium padat PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan kit ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*).

Pembuatan kacang telur

Cara pembuatan kacang telur pada penelitian ini, seperti terlihat pada Gambar 1. Ada 2 jenis produk kacang telur, yaitu kacang telur yang dibuat dari bahan kacang yang telah dicemari aflatoksin, dan kacang utuh tanpa cemaran aflatoksin.



Gambar 1
Diagram Alur Tahap Pembuatan Kacang Telur

Baik kacang yang telah dicemari aflatoksin maupun kacang utuh tanpa cemaran aflatoksin, kemudian direbus dalam larutan kapur dengan konsentrasi yang bervariasi. Bagi kacang yang telah dicemari aflatoksin, perlakuan bertujuan untuk mengetahui pengaruh perendaman dalam larutan kapur terhadap pengurangan kandungan aflatoksin. Sementara bagi kacang utuh tanpa cemaran aflatoksin, perlakuan bertujuan untuk mengetahui pengaruh perendaman

dalam larutan kapur terhadap citarasa dari kacang telur.

Pembuatan kacang tanah ber aflatoksin

Kacang tanah dimasukkan ke dalam kotak plastik, kemudian diinokulasi dengan spora *Aspergillus flavus* yang telah ditumbuhkan pada media PDA (*Potetos Dektrose Agar*), yang mengandung spora sebanyak 10^6 spora/ml/kg bahan. Kacang yang telah terkontaminasi, kemudian diinkubasi dalam ruangan bersuhu 30° C sampai diperoleh kandungan AFB₁ pada

kacang tanah sekitar 96 ppb. Pada penelitian ini waktu inkubasi yang diperlukan sekitar 2 bulan.

Analisis Aflatoksin B₁

Penetapan kandungan aflatoksin B₁ dilakukan dengan metode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*).¹⁶ Prinsip metode adalah reaksi spesifik antara antigen dan antibodi. Hasil reaksi dapat diamati dengan menggunakan penanda. Sebanyak 25 gram sampel diambil, diekstraksi dengan cara diblender dalam metanol 60 persen, pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Hasil ekstraksi direaksikan dengan *kit* ELISA. Hasil absorbansi ditera dengan *microplate reader* dan dikonversi menjadi kadar AFB₁ melalui kurva standar.

Uji organoleptik

Uji organoleptik untuk mengetahui pengaruh perendaman dalam larutan kapur terhadap daya terima kacang telur. Pengujian dilakukan oleh 20 orang panelis yang meliputi rasa, warna, tekstur, dan aroma dengan skor penilaian: 1 (sangat tidak suka), 2 (tidak suka), 3 (cukup suka), 4 (suka) dan 5 (sangat suka).^{17,18}

HASIL

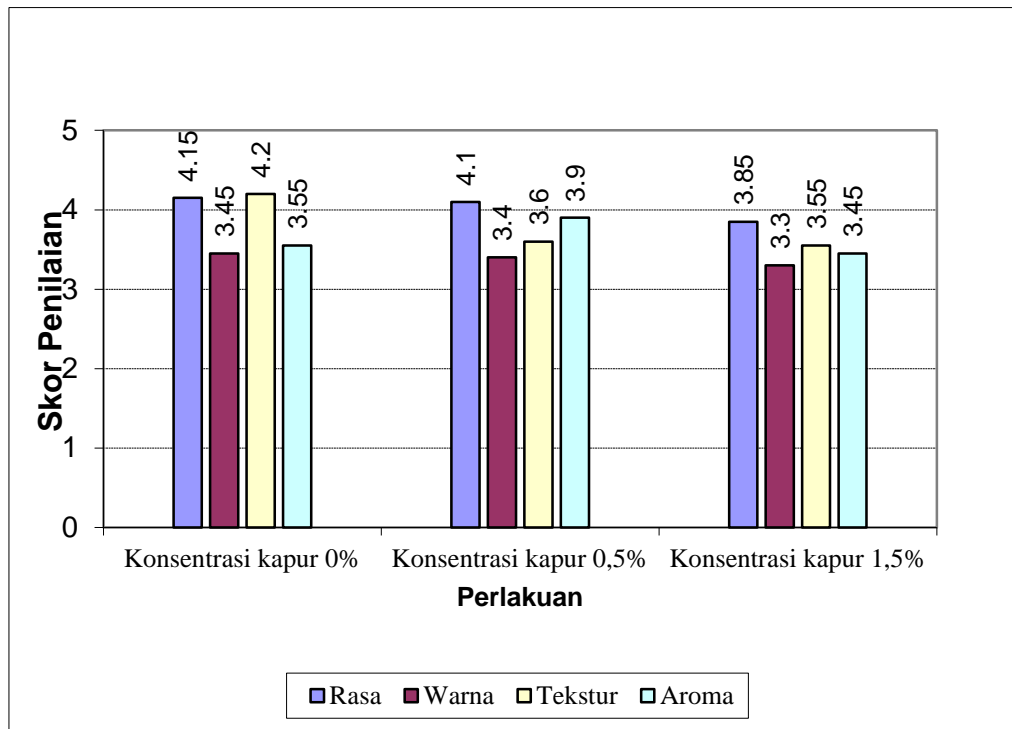
Hasil analisis kandungan aflatoksin disajikan pada Tabel 1. Tampak pada tabel, ternyata aflatoksin juga terkandung dalam kacang mentah utuh. Kandungan aflatoksin meningkat ketika kacang dicemari *Aspergillus flavus*, kemudian menurun ketika perendaman dalam larutan kapur, serta ketika penggorengan.

Tabel 1
Hasil Analisis Kandungan Aflatoksin B₁

No	Jenis Kacang Tanah	Kadar Aflatoksin B ₁ (ppb)
1	Kacang tanah mentah utuh	2,8
2	Kacang tanah mentah yang telah dicemari <i>Aspergillus flavus</i>	108
3	Kacang tanah hasil perebusan dalam larutan kapur	
	a. 0,5 %	80
	b. 1,5 %	78
4	Kacang tanah hasil penggorengan	
	a. 0,5 %	64
	b. 1,5 %	62

Pengaruh perendaman kacang dalam larutan kapur terhadap sensori dari

kacang telur yang dihasilkan, terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2
Hasil Penilaian Sensoris terhadap 3 Jenis Produk Telur Kacang

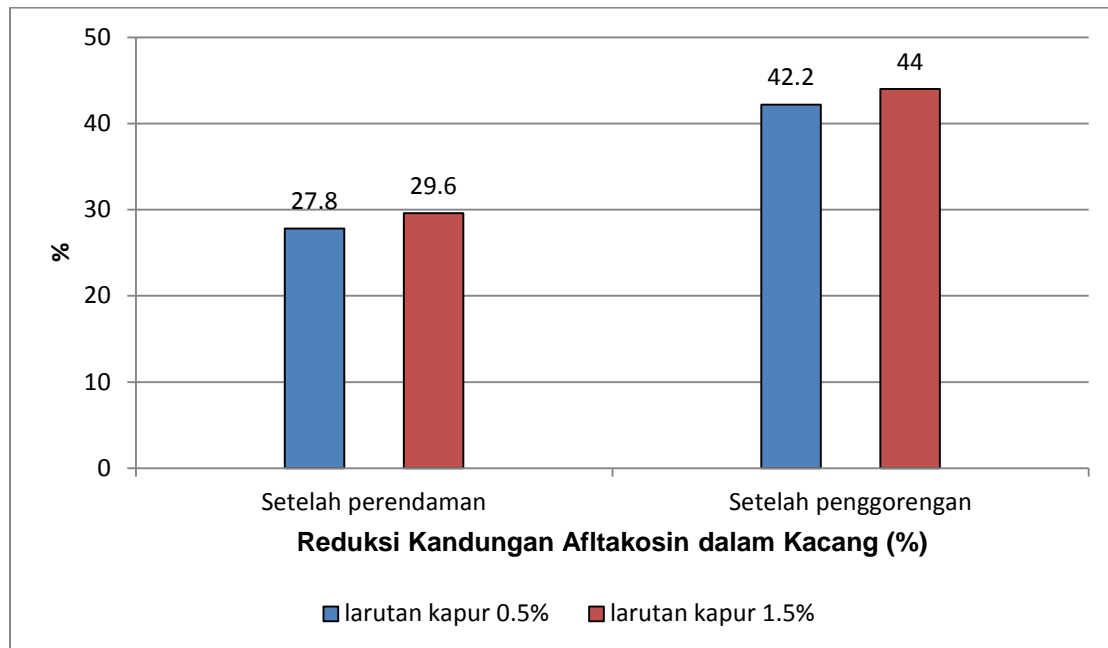
Hasil pengujian sensoris terhadap warna, tekstur, aroma, dan rasa kacang menunjukkan bahwa tingkat kesukaan panelis terhadap produk kacang telur yang dihasilkan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan atau tanpa menggunakan larutan kapur.

BAHASAN

Seperti terlihat pada Tabel 1, kandungan afatoksin berkurang setelah perlakuan perendaman dalam larutan kapur dan penggorengan. Tahap perebusan kacang tanah dalam larutan kapur menunjukkan bahwa perlakuan dengan kombinasi panas dan kapur mampu mereduksi kandungan aflatoksin

pada pengolahan kacang telur, tetapi kandungannya masih di atas batas aman, yaitu di atas 20 ppb. Reduksi kandungan aflatoksin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi larutan kapur. Seperti terlihat pada Gambar 1, reduksi kandungan aflatoksin kacang yang direndam dalam larutan 0,5 persen adalah 27,8 persen, dan meningkat menjadi 29,6 persen pada perendaman larutan kapur 15 persen.

Hal ini disebabkan larutan kapur pada suhu panas dapat melunakkan dan mengembangkan jaringan biji kacang tanah, menjangkau masuk ke dalam jaringan biji, merusak cincin lakton pada struktur AFB₁.¹⁹



Gambar 2
Reduksi Kandungan Aflatoksin Kacang Selama Perlakuan

Mendez dkk²⁰ melaporkan bahwa pada produk makanan berbasis jagung (*tortilla*), yang pada proses pengolahannya menggunakan larutan kapur 1—3 persen, dengan suhu 85°C selama 70 menit, dapat mereduksi aflatoksin sampai 90 persen. Samarajeewa *et al*²¹ melaporkan bahwa pada produk *peanut meal* yang dimasak pada suhu 100°C, selama 2 jam dengan kelembaban 30 persen, dapat menurunkan cemaran aflatoksin B₁ sebesar 66 persen.

Tahap penggorengan meningkatkan reduksi kandungan aflatoksin menjadi 42,2 persen pada kacang yang direndam dalam larutan kapur 0,5 persen, dan menjadi 44 persen dalam kacang yang direndam dalam larutan kapur 1,5 persen. Bila dihitung, peningkatan reduksi kandungan aflatoksin adalah sebesar 14,4 persen untuk kedua perlakuan.

Pemanasan bisa menurunkan kandungan aflatoksin, seperti yang dilaporkan oleh Samarajeewa *et al*,²¹ yang menunjukkan bahwa penyinaran dengan cahaya matahari atau lampu terhadap *peanut flake*, dengan ketebalan 0,5 mm selama 14 jam, mampu mendegradasi aflatoksin sebesar 77—90 persen.

Walaupun dikatakan bahwa aflatoksin stabil terhadap proses termal, namun beberapa studi telah melaporkan bahwa beberapa proses pengolahan menggunakan panas, seperti *roasting*, dapat menurunkan atau mereduksi kandungan aflatoksin.^{22,23} Penggunaan suhu tinggi sebagai bentuk pengolahan, seperti *roasting*, dapat mereduksi aflatoksin 53 persen pada *ground pistachio kernel*, yang menggunakan suhu 150°C selama 30 menit, merupakan kondisi yang optimal dengan tidak mengubah citarasa.²⁴

Secara keseluruhan pembuatan kacang telur pada penelitian ini mampu menurunkan kandungan aflatoksin pada biji kacang tanah sebesar 42,2 persen, yang direndam dalam larutan kapur 0,5 persen, dan 44 persen dalam kacang yang direndam dalam larutan kapur 15 persen.

Pengujian organoleptik untuk menguji produk dengan total ranking tertinggi dan mampu menurunkan kandungan cemaran aflatoksin B₁ secara signifikan, menggunakan *Friedman test* dan LSRD pada α 0,0. Hasil pengujian terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2
Ranking Total Uji Intensitas Preferensi Kacang Telur menurut Konsentrasi Kapur

No	Konsentrasi Larutan Kapur (%)	Ranking Total	Chi-square (X ²)	Asymp.sig
1	0,00	76,75 a	5,5210	0,0630
2	0,50	74,25 a		
3	1,50	80,00 a		
LSRD α 0,05		18,4667		

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti dengan huruf sama pada kolom yang sama tidak berbeda signifikan pada tes LSRD α 0,05

Tabel 2 menunjukkan bahwa faktor konsentrasi kapur tidak berpengaruh signifikan terhadap ranking total intensitas preferensi kacang telur. Hal ini dapat dilihat dari nilai probabilitas Chi-square = 0,0630; yang jauh lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Dengan demikian, penggunaan larutan kapur dengan konsentrasi hingga 1,5 persen yang digunakan dalam mereduksi AFB₁, tidak memengaruhi selera/penerimaan konsumen terhadap produk kacang telur.

KESIMPULAN

1. Perebusan dalam larutan kapur 1,5 persen selama 10 menit, pada tahap pembuatan kacang telur, mampu mereduksi aflatoksin B₁ sebesar 44 persen.
2. Reduksi AFB₁ meningkat dengan meningkatnya kadar larutan kapur.
3. Organoleptik kacang telur yang telah mengalami perebusan dalam larutan kapur dengan konsentrasi 1,5 persen tidak berpengaruh terhadap sifat sensoris produk kacang telur.

SARAN

Kandungan aflatoksin dari kacang telur yang dihasilkan pada penelitian ini masih di atas batas aman, yaitu 20 ppb, karena itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk menentukan konsentrasi larutan kapur yang optimal serta waktu perebusan yang cukup untuk mereduksi kandungan aflatoksin dalam kacang yang maksimal, tanpa ada perubahan sensoris dari produk kacang.

RUJUKAN

1. Noviandi C.T., E. Razzazi, A. Agus, J. Bohm, H.W. Hulan, S. Wedhastri, Y.B. Maryudhani, Nuryono, Sardjono and J. Leibetseder. Natural Occurance 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., 2001.

2. Syarief, Rizal., La Ega, C.C. Nurwitri. *Mikotoksin Bahan Pangan*. IPB Press, Bandung. 2003.
3. Choct, M. Nutritional Constrains to Alternative Ingredients, *ASA Technical Buletin.*, 2001; Vol. AN 31, Hal 3-4.
4. Bahri, S. Mewaspadaai Cemaran Aflatoksin pada Bahan Pangan, pakan dan produk peternakan di Indonesia. *Jurnal Litbang Pertanian*. 2001 ; 20 : 55 – 63
5. Lilienny, O.S. Dharmaputra, dan A.S.R. Putri. Populasi Kapang Pascapanen dan Kandungan Aflatoksin pada Produk Olahhan Kacang Tanah. *J. Mikrobiologi Indonesia*. 2005 ; 17-20.
6. Rubak, Y.T, A. V. Simamora dan L. Mukkun. Tingkat Cemaran Aflatoksin B₁ pada kacang tanah di Kabupaten kupang, NTT. *Laporan Penelitian Dipa Undana*. 2008.
7. Badan POM. *Aflatoksin*, Buletin POM : Keamanan Pangan. 2002. Volume 2 / Edisi I.
8. Reddy, U. Aflatoxins – its prevention and detoxification . *Food and utrition News of Acharya N.G. Ranga Agricultural University* .1996;1(4):1-4.
9. Yazdanpanah, H., T. Mohammadi, G. Abouhossain and A. A. Cheraghali. Effect of Roasting on Degradation of Aflatoxin in Contaminated Pistachio Nuts. Faculty of Pharmacy. Shaheed Vestí University of Medical Science . 2005. Teheran 14155. Iran.

10. Ansori. Reduksi Kadar Aflatoksin B₁ (AFB₁) pada Pengolahan Kacang Garing Melalui Optimasi Perendaman, Pemanasan, dan Penekanan, Tesis, Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Gadjah Mada. 2004.
11. Suttajit, M. Prevention and Control of Mycotoxin, Edited by Semple, R.I., Frio, A.S., Hicks, P.A., and Lozare, J.V., 1989, *Mycotoxin Prevention and Control in Foodgrain (I)*, A collaborative publication of the UNDP/FAO, Regional Network Inter-country Cooperation on Preharvest Technology and Quality Control of Foodgrain (REGNET) and the ASEAN Grain Postharvest Programme. 1989.
12. Peltonen, K., H. El Nezami, C.A. Haskard, J. Ahokas and S. Salminen. Aflatoxin B₁ Binding by dairy Strain Lactic Acid Bacteria and *Bifidobacteria*, *Journal of Dairy Science*. 2001; 84 : 2152 – 2156
13. Shetty, P.H., Benedicte Hald and Lene Jespersen. Surface Binding of Aflatoxin B₁ by *Saccharomyces cerevisiae* strain with Potential Decontaminating abilities in Indigenous Fermented food, *International Journal of Food Microbiology*, , 2007;113 : 41 – 46
14. Price, R.L. and K.V. Jorgensen. Effect of Processing on Aflatoxin Levels and on Mutagenic Potential of Tortillas made from Naturally Contaminated Corn. *J. Food Science*. 1985; 50:347
15. Hwang, J. H., K.G. Lee. Reduction of aflatoxin B₁ Contamination in Wheat by Various Cooking Treatments. Departement of Food Science and Technology, Dongguk University, 26-Ga, Pil-dong, Chung-gu, Seoul. 2005; 100-715. Korea.
16. Stanker, L.H. dan R.C. Beier. Introduction to immunoassay for residue analysis: Concept, formats and applications in immunoassays for residue analysis. In. *ELISA workshop*. Simple test for monitoring mycotoxins and pesticides in produce. Post Harvest Technology Insitute. Ho Chi Minh City, Vietnam, November 15-17, 1999. University of Sydney. 1995. pp. 12-22.
17. Branger, E.B., Sims, C.A. Schmidt, R.H. O.Keefe, S.F. & Cornell, J.A. Sensory Characteristics of Cottage Cheese Whey and Grape Juice Blends and Change During Processing. *J. Food Sc.* 1999; 64(1). 180-184.
18. Lawless, H.T. and H. Heymann. Sensory Evaluation of Food. ITP. Chapman and Hall. New York. 1998.
19. Suttajit, M. Prevention and Control of Mycotoxin, Edited by Semple, R.I., Frio, A.S., Hicks, P.A., and Lozare, J.V., 1989, *Mycotoxin Prevention and Control in Food grain (I)*, A collaborative publication of the UNDP/FAO, Regional Network Inter-country Cooperation on Pre-harvest Technology and Quality Control of Food grain (REGNET) and the ASEAN Grain Postharvest Program. 1989.
20. Mendez, J. A., G. Arambula-Villa, M. G. Loarca-Pina, J. Gonzalez Hernandez, E. Castano-Tostado and E. Moreno-Martinez. Aflatoxins' fate during the Nixmalization of Contaminated Maize by Two Tortilla-Making Processes. *Journal of Stored Products Research* 2002; 87-94.
21. Samarajeewa, U.S., A.C. Cohen, dan C.L. Wei. Detoxification of Aflatoxin in Foods and Feeds by Physical and Chemical Methods. *J. Food Protection*. 1990 ; 53:489-501.
22. Christensen, C.M., C.I. Mirocha, and R.A. Meronuck. Mold, mycotoxin and mycotoxicosis. In: *Agricultural Experiment Station Report*. Univ. of Minesota. . 1977.
23. Luter, L., W. Wyslouzil and S.C. Kashyap. The destruction of aflatoxin in peanuts by microwave roasting. *Can Inst Food Sci Technol J.* , 1982; 15 : 236
24. Yazdanpanah, H., T. Mohammadi, G. Abouhossain and A. A. Cheraghali. Effect of Roasting on Degradation of Aflatoxin in Contaminated Pistachio Nuts. Faculty of Pharmacy. Shaheed Vestí University of Medical Science. 2005. Teheran 14155. Iran.