

✓ KEMUNGKINAN PENGGUNAAN ASAM LEMAK SEBAGAI  
INDIKATOR DERAJAT KONTAMINASI GABAH/BERAS  
OLEH KAPANG DAN MIKOTOKSIN

Oleh:  
Anies Irawati

*ABSTRAK. Metoda analisis yang ada untuk mengukur derajat kontaminasi biji-bijian oleh jasad renik, terutama oleh kapang dan senyawa beracun mikotoksik, memang cukup peka dan andal tetapi kurang praktis digunakan di lapangan. Waktu untuk analisis cukup lama (5-15 hari untuk metoda klasik atau metoda Ulster) dan biaya analisis mahal (dengan metoda ergosterol, Rp 60.000 per contoh). Dalam penelitian yang dilaporkan ini telah dicoba mengukur derajat kontaminasi beras oleh kapang dengan membandingkan kadar asam lemak beras pada saat sebelum dan sesudah disimpan selama sampai 200 hari. Kadar asam lemak ditentukan secara titrasi. Didapat korelasi yang bermakna antara peningkatan kadar asam lemak dengan derajat kontaminasi beras oleh kapang. Pada saat kadar asam lemak (hasil aktivitas lipase kapang) mencapai nilai 0.06 gram H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> per 100 gram gabah dapat memberi petunjuk tentang derajat pencemaran beras oleh kapang tetapi tidak dapat memberi petunjuk dalam hal jenis kapang yang mencemari beras tersebut. Pada keadaan ini analisis kadar asam lemak saja agaknya tidak cukup, perlu dilanjutkan dengan analisis klasik serta identifikasi kapang dan mikotoksin (aflatoksin dan islanditoksin).*

## PENDAHULUAN

Analisis kadar asam lemak telah lama digunakan dalam pendeteksian perubahan kimiawi yang terjadi pada biji-bijian dan sereal. Kerusakan beras, jagung, kacang-kacangan dan lain-lain hasil pertanian sewaktu penyimpanan selalu disertai dengan kenaikan kadar asam lemak yang dikandungnya (Pomeranz, 1971).

Para peneliti terdahulu (Baker et al, 1957; Sorger Dominig, et al, 1955) mencoba mempelajari analisis asam lemak sebagai salah satu cara untuk mengetahui perkembangan atau derajat pencemaran biji-bijian oleh kapang. Hal yang mendorong para peneliti tersebut antara lain,

karena penggunaan metoda analisis jasad renik klasik atau metoda Uls-ter memerlukan waktu inkubasi cukup lama (5-15 hari). Waktu yang lama ini dianggap kurang membantu, khususnya untuk analisis komoditi yang sedang diperdagangkan. Di samping itu, cara analisis dengan menghitung jumlah perkembangan spora seringkali tidak memberi gambaran yang sesungguhnya terutama apabila spora telah banyak mati (karena otos-trilisasi), padahal sebelumnya biji-bijian tersebut telah tercemar oleh kapang dan mikotoksin. Metoda analisis asam lemak yang paling sederhana dengan cara titrasi hanya memerlukan waktu tidak lebih dari 2 jam, sehingga anjuran penggunaan analisis asam lemak untuk pengukuran tingkat pencemaran biji-bijian oleh kapang atau bahkan oleh senyawa beracun mikotoksin, dapat dipahami.

Peneliti-peneliti berikutnya (Seitz et al., 1977; Cahagnier, et al., 1983) menganjurkan penggunaan analisis ergosterol sebagai metoda analisis mikroba secara kuantitatif yang cukup cepat (2 jam) di samping-cukup sensitif dan andal. Peneliti lain (Cochranet, 1975) mempelajari kemungkinan penggunaan analisis senyawa cithin (polimer N-acetil-D-glucosamine) sebagai metoda kimia untuk pendeteksian perkembangan kapang sewaktu penyimpanan biji-bijian.

Dipandang dari segi keterandalan, metoda-metoda seperti di kemukakan, metoda deteksi ergosterol merupakan yang terbaik, sedangkan metoda chitin kurang sensitif, karena serangga dapat memproduksi senyawa tersebut. Masalah utama pada penggunaan analisis ergosterol adalah memerlukan biaya mahal (Rp 60.000,- per contoh), dan instrumen yang canggih (HPLC) sehingga untuk keperluan skala lapang, metoda tidak langsung melalui pengukuran kandungan asam lemak diharapkan cukup memadai (biaya analisis sekitar Rp 2500,- per unit contoh).

Pelepasan asam lemak terjadi karena proses hidrolisis triglicerida dengan lipase sebagai katalisator. Enzim tersebut dihasilkan oleh kapang yang mencemari biji-bijian. Asam lemak lebih mudah dioksidasi daripada triglicerida, sehingga penurunan terjadi dengan cepat, apabila kadar asam lemak cukup tinggi. Di samping karena aktifitas

lipase, peningkatan keasaman biji-bijian dapat pula karena hal lain, seperti aktifitas protease dengan membebaskan asam amino; fosfatase membebaskan asam fosfat, serta oksidasi asam lemak tidak jenuh. Produksi asam lemak oleh aktifitas-aktifitas tersebut terjadi dalam jumlah yang sangat kecil. Biji-bijian itu sendiri secara alami mengandung asam lemak yang kadarnya bervariasi menurut jenis komoditi. Karena itu untuk dapat membedakannya perlu diketahui terlebih dahulu kandungan rata-rata asam lemak tiap komoditi.

Penelitian ini terutama bertujuan untuk mempelajari kemungkinan penggunaan hasil analisis asam lemak (dengan metoda titrasi) sebagai indikator derajat pencemaran gabah atau beras oleh kapang mikotoksin, khususnya pendeteksian pencemaran awal oleh kapang serta perkiraan potensi senyawa mikotoksin yang ditimbulkannya.

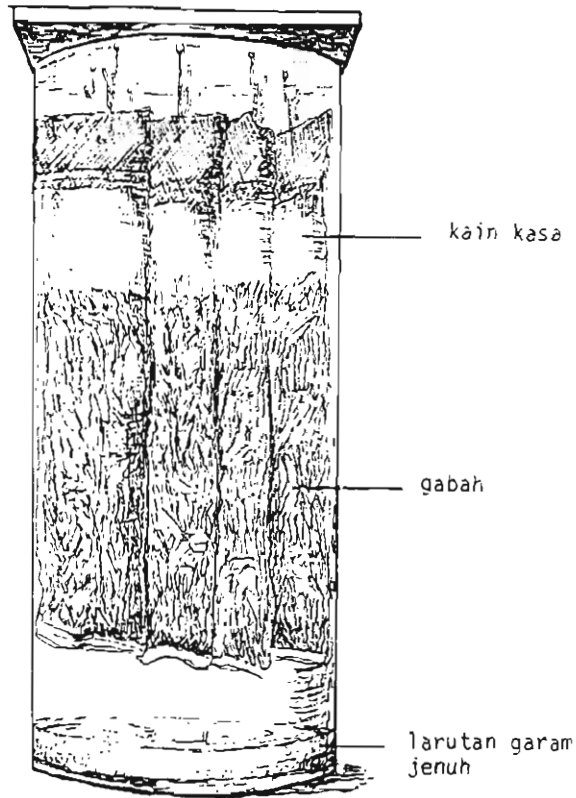
## METODOLOGI

### *Bahan dan Peralatan*

Dalam penelitian ini digunakan gabah sebagai kasus, disimpan dalam tabung gelas/kaca silinder, kemudian ditutup sedemikian rupa sehingga memungkinkan pertukaran oksigen dari udara. Dalam tiap tabung digantungkan saset (kantong kecil) anyaman nilon (1600 U) yang diisi sekitar 120 gram gabah tiap saset. Aktifitas air (Aw gabah) diatur dengan larutan garam jenuh yang diletakkan pada bagian dasar tabung silinder (Gambar 1). Dalam keadaan seimbang Aw gabah analog dengan kelembaban atau humidity relatif udara (HR), sehingga dalam uraian selanjutnya, aktifitas air dinyatakan dalam kelembaban relatif.

### *Perlakuan Suhu dan Kelembaban*

Kelembaban relatif (HR) konstan selama penyimpanan, berturut-turut 72 persen (larutan jenuh  $\text{NaNO}_3$ ), 80 persen ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ), 85 persen ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), dan 93 persen ( $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ ). Berdasarkan grafik sirpsi isothermik gabah, dalam keadaan seimbang (dibuat sebelum penelitian dimulai), maka kadar teoritis air gabah berturut-turut sekitar 13,0; 14,5; 16,5; dan 19,5 persen basis basah (BB) (Tabel 1).



Gambar 1. Tabung Silinder Kaca untuk Percobaan Simulasi Penyimpanan.

Suhu ruangan diatur dengan termostat yang pertama pada suhu  $30^{\circ} + 1$  C konstan selama penelitian, sedangkan yang kedua suhu "siklus" bolak-balik yaitu  $25^{\circ}\text{C}$  selama 16 jam,  $40^{\circ}\text{C}$  selama 10 jam berikutnya dengan waktu naik-turun sekitar 4 jam. Kondisi yang kedua diharapkan dapat mendeteksi keadaan yang sesungguhnya (suhu malam-siang).

#### *Pengamatan*

Contoh dianalisis secara periodik selama masa percobaan penyimpanan. Total waktu penyimpanan selama 200 hari.

Analisis laboratorium meliputi :

Tabel 1. Keseimbangan Kelembaban Relatif dan Kadar Air Gabah pada Berbagai Kondisi Suhu Udara (Multon dan Bizot, 1981; R. Syarif, 1983)

Larutan Garam	Kelembaban Relatif (%)			Keseimbangan Kadar Air (% BB)		
	25°C	30°C	40°C	25°C	30°C	40°C
NaNO <sub>3</sub>	74,0	72,5	70,0	13,0	13,3	12,7
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	80,0	80,0	79,0	15,0	14,5	14,4
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	86,0	85,9	-	17,0	16,4	16,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	93,5	93,0	19,0	19,6	19,0

- Pengukuran kadar air dengan metoda referensi (oven).
- Analisis kuantitatif dan kualitatif mikrobiologi serta identifikasi kapang (metode AFNOR-18-301).
- Analisis kadar lemak (modifikasi dari metoda AOAC, yaitu metoda AFNOR V-03-712).
- Analisis kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> (metoda EEC 372/776, AFNOR V-18-200) dengan deteksi HPLC, LDX (Milton Roy) Spherisorb NH<sub>2</sub>25 cm, detektor : fluorometric, eksitasi 360 nm, dan emisi 418-700 nm.

## HASIL DAN BAPASAN

Pengamatan pertama dilakukan pada analisis asam lemak karena hasil pengukuran kadar air gabah menunjukkan nilai yang tidak berbeda dengan kadar teoritis air (Tabel 1). Perkembangan bakteri menunjukkan suatu keadaan yang tidak membahayakan (kurang dari 10 juta koloni per gram) dan menunjukkan penurunan jumlah setelah 4 hari penyimpanan. Di samping itu tidak ada bakteri patogenik, yang berarti dalam penyimpanan biji-bijian atau hasil olahannya (tepung) tidak ada bahaya dari bakteri selama penyimpanan berlangsung normal (keadaan air dan aktifitas air relatif rendah).

Perkembangan kapang selama penyimpanan pada suhu konstan 30°C identik dengan suhu bolak-balik 25°C atau 40°C, seperti diperlihatkan pada Gambar 2.

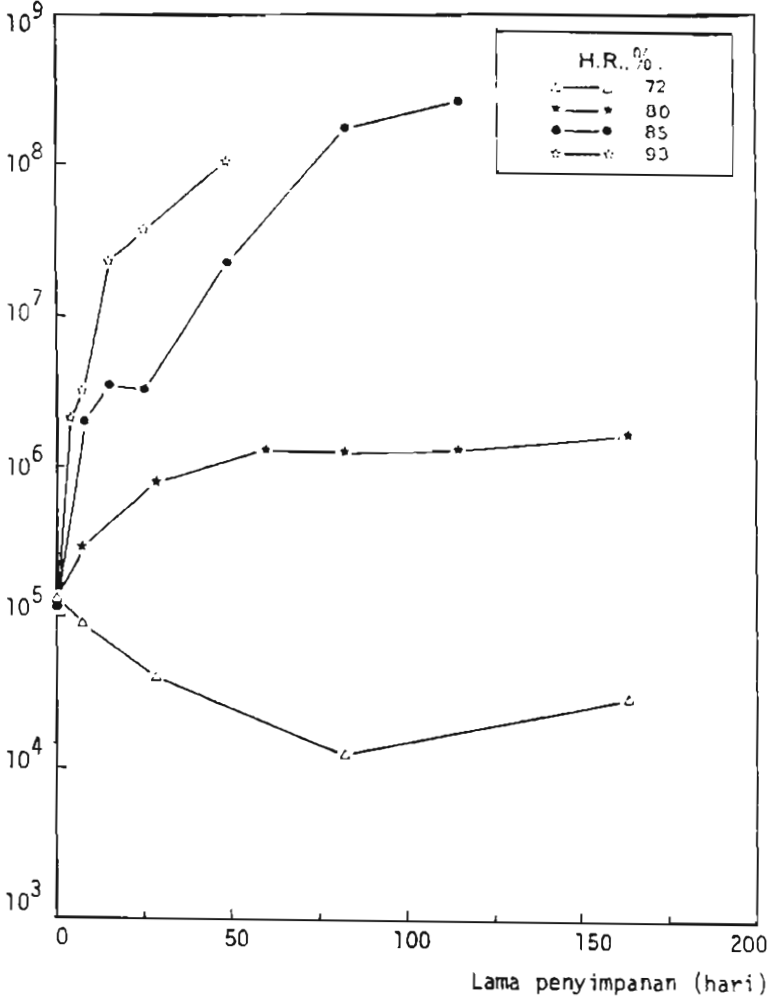
Kapang yang terdapat pada awal penyimpanan terdiri dari kapang pra panen yang bersifat higrophil (*Phoma herbarum*, *Fusarium lateritium*, *Cladospodium*). Pada 72% HR terdapat terutama *Aspergillus restrictus* (setelah 163 hari), pada 80 persen HR umumnya terdapat *Aspergillus* dari grup *glaucaus*, (*A. niger*, *A. nidulans*, *A. carbonarius*). Selanjutnya pada 85 persen HR, didominasi oleh *A. candidus*, *A. flavus*, *A. wentii* dan *Fusillidium implicatum*, sementara pada 93 persen HR, *A. flavus* bertambah banyak diikuti oleh *Fusillidium isaboldicum*. Kedua jenis kapang yang disebut terakhir berpotensi untuk menghasilkan senyawa beracun, berturut-turut aflatoksin dan islanditoksin (racun beras kuning).

Bila dibandingkan dengan kandungan asam lemak (Gambar 3), maka perkembangan kapang paralel dengan penambahan asam lemak. Dalam hal ini tampak bahwa kadar asam lemak awal biji-bijian sekitar 0,02 gram H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/100 gram gabah.

Untuk penelaahan lebih lanjut dilakukan analisis korelasi antara perkembangan kapang dan peningkatan kandungan asam lemak. Pada Tabel 2 dan Gambar 4, tampak korelasi yang sangat nyata, khususnya pada tingkat hidratisasi tinggi.

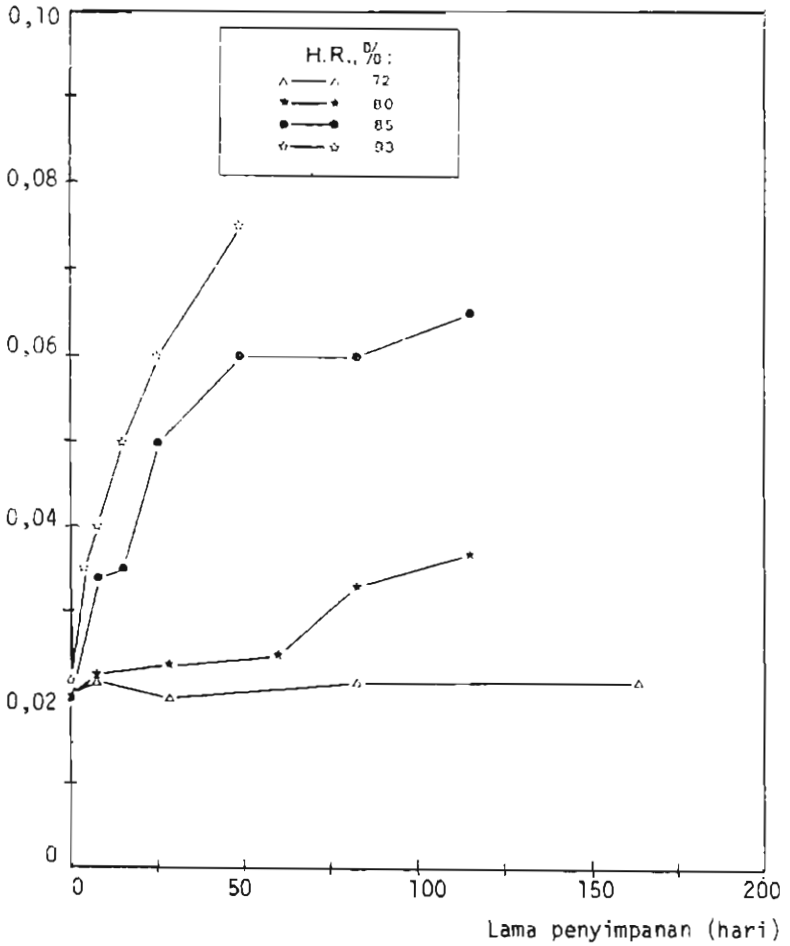
Analisis asam lemak dapat digunakan untuk melihat perkembangan jumlah kapang yang mencemari biji-bijian dan hasil olahannya, akan tetapi tidak dapat digunakan untuk menilai perkembangan jenis kapang. Dengan demikian, pada keadaan kandungan asam lemak gabah/beras (lebih dari 0,06 gram H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/100 gram) maka hasil analisis asam lemak sebagai indikator derajat kontaminasi terhadap tingkat pencemaran kapang perlu diikuti dengan analisis klasik mikrobiologi. Pada keadaan kandungan asam lemak tinggi diduga akan terdapat berbagai jenis kapang yang berbahaya dilihat dari potensi menghasilkan senyawa mikotoksin. Dalam penelitian ini, karena pemunculan *A. flavus* selama

Jumlah kapang/g B.K.



Gambar 2. Perkembangan Kapang pada Percobaan Penyimpanan Gabah dengan Suhu Ruang "Bolak-balik" 24/40°C.

Asam lemak  
(g.  $H_2SO_4$  / 100g B.K.)



Gambar 3. Perkembangan Kandungan Asam Lemak Hasil Hidrolisis Triglycerida dengan Katalisator Lipase pada Percobaan Penyimpanan Gabah Suhu "Bolak-balik" 25/40°C.



penyimpanan bertepatan dengan kandungan asam lemak di atas 0,06 gram  $H_2SO_4/100$  gram, maka dilakukan analisis aflatoksin B1 (Tabel 3).

Tabel 2. Hasil Analisa Regresi untuk Melihat Korelasi Antara Peningkatan kandungan Asam Lemak dengan Derajat Kontaminasi Kapang (log jumlah kapang)

Suhu Percobaan (%)	HR (%)	R	r'		Kebermaknaan
			5%	1%	
30	72	-0,032	0,878	0,959	TN
	80	0,462	0,811	0,917	TN
	85	0,862	0,754	0,874	N
	93	0,886	0,754	0,874	NS
25/40	72	-0,484	0,878	0,959	TN
	80	0,879	0,811	0,917	N
	85	0,936	0,754	0,874	NS
	93	0,967	0,811	0,917	NS

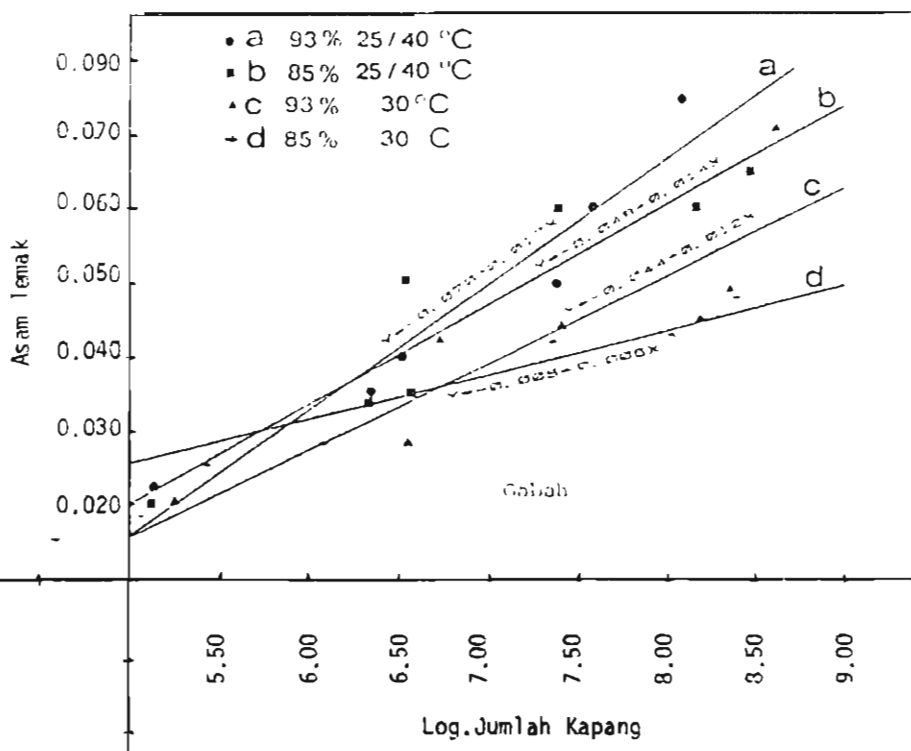
Catatan: r = koefisien korelasi

r' = ambang kebermaknaan dari r (5% dan 1%)

TN, N, NS = tidak nyata, nyata, nyata sekali

Tabel 3. Perkembangan Aflatoksin B1 ( $\mu$ /kg) pada Gabah selama Penyimpanan pada Kelembaban Relatif 93 persen

Lamanya Penyimpanan (hari)	30°C	25/40°C
0	0	0
7	0	25
15	0	128
25	0	354
28	54	-
49	57	560
56	118	-
70	372	-
190	562	-



Gambar 4. Regresi Kandungan Asam Lemak sebagai Fungsi dari Jumlah (log jumlah) Kapang.

Kandungan aflatoksin gabah seperti pada Tabel 3 berada pada tingkat yang sangat membahayakan kesehatan manusia, yaitu lebih besar dari ambang toleransi minuman (15-20 ug/kg atau ppb) seperti yang berlaku di negara-negara industri.

## SIMPULAN

Analisis asam lemak biji-bijian dan hasil olahannya dapat digunakan untuk melihat adanya pencemaran oleh kapang. Khusus untuk gabah, pada tingkat kandungan asam lemak di atas 0,06 gram  $H_2SO_4/100$  gram bahan, analisis asam lemak perlu diikuti oleh analisa klasik mikrobiologi. Pada keadaan ini pula diduga timbul senyawa mikotoksin sebagai hasil metabolisme sekunder dari kapang apabila dijumpai jenis kapang yang potensial menghasilkan toksin. Kandungan mikotoksin tersebut dapat melebihi ambang toleransi minimum yang diizinkan.

Karena kadar asam lemak biji-bijian sangat bervariasi untuk tiap komoditi, di samping itu pengasaman biji-bijian bisa juga disebabkan oleh hal lain di luar kapang, maka penggunaan kadar asam lemak sebagai indikator derajat kontaminasi gabah/beras masih perlu penelitian lebih lanjut. Walaupun demikian, untuk kepentingan di lapangan, metoda analisis asam lemak akan sangat menolong, karena biaya analisis relatif murah dan secara teknis mudah dilakukan.

## RUJUKAN

1. Baker, D., M.H. Neustadt, L. Zeleny. 1957. Application of the fat acidity tests as an index of grain deterioration. *Cereal Chem.*, 34 : 226-232.
2. Cahagnier, B., D. Richard-Molard, J. Poisson. 1983. Evolution of the ergosterol content of cereal grains during storage. A possibility for a rapid test of fungal development in grains. *Science des Aliments Fecrier*.
3. Cochranet, W. 1975. Hexosamine biosynthesis by fungi as a reliable index of their growth in liquid and solid media. Thesis Virginia Polytechnic Institute and State University.

4. Pomeranz, Y. 1971. Biochemical and functional changes in stored cereal grains. *Critical Reviews in Food Technology*, 2:45-80.
5. Seitz, L.M., D.B.Sauer, H.E.Mohr. 1981. Storage of high moisture corn : Fungal growth and dry matter loss. *Cereal Chem.*, 59 (2) : 100-105.
6. Sorger-Domenig, H., L.S.Chundet, W.F.Geddes. 1955. Grain storage studies XX. Relation between viability fat acidity, germ damage, fluorescence value and formazan value of commercial wheat samples. *Cereal Chem.*, 32 : 499-506.
7. Syarief, R. 1983. Contribution a l etude de la conservation du riz paddy. Influence des conditions hydrothermiques de stockage sur les qualites microbiologiques du grain. These de Docteur. INRA Biophysique Universite de Nantes.