

PENGARUH BAKTERI PROBIOTIK TERHADAP MUTU SARI KACANG TANAH FERMENTASI

Sri Usmiati¹ dan Tyas Utami²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian

Jl. Tentara Pelajar 12A Bogor 16114

email: bb_pascapanen@litbang.deptan.go.id, bb_pascapanen@cbn.net.id

²Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada

Kampus UGM Yogyakarta

Kacang tanah adalah sumber bahan pangan yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi minuman fermentasi. Kacang tanah dan olahannya rentan terhadap kontaminasi aflatoksin. Salah satu cara untuk menguranginya adalah memanfaatkan bakteri asam laktat probiotik sebagai agensia fermentasi yang dapat mengikat aflatoksin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi penggunaan bakteri asam laktat probiotik yang mampu mengikat aflatoksin terhadap mutu sari kacang tanah fermentasi yang aman dikonsumsi. Penelitian meliputi kegiatan: (1) seleksi bakteri asam laktat, (2) penentuan rasio kacang tanah dengan air untuk minuman fermentasi sari kacang tanah, (3) penyimpanan minuman sari kacang tanah fermentasi pada suhu 4°C selama 14 hari, (4) uji sensoris produk minuman sari kacang tanah fermentasi, dan (5) fermentasi sari kacang tanah yang terkontaminasi aflatoksin menggunakan kultur terpilih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* SNP2 terpilih sebagai starter dalam fermentasi sari kacang tanah berdasarkan kemampuan menurunkan pH paling cepat dan sifat sensoris produk yang paling baik. Rasio kacang tanah dengan air 1:10 pada suhu 37°C selama 18 jam terpilih dalam fermentasi sari kacang tanah yang menghasilkan produk dengan nilai pH 3,58 dan jumlah sel $1,94 \times 10^9$ CFU/ml. Penyimpanan produk selama 9 hari pada suhu 4°C minuman sari kacang tanah fermentasi secara sensoris menjadi sangat asam dengan konsistensi lebih menggumpal. Fermentasi sari kacang tanah terkontaminasi aflatoksin menggunakan *Lactobacillus acidophilus* SNP2 dapat menurunkan aflatoksin sebesar 8,55 %.

Kata kunci : sari kacang tanah, fermentasi, bakteri asam laktat, aflatoksin

ABSTRACT. Sri Usmiati and Tyas Utami. 2008. Effect of probiotic bacteria on quality of fermented groundnut extract. Groundnut is a source of foods which is potential to be developed as fermented groundnut extract drinks. Groundnut and its processed products are easy to be contaminated by aflatoxin. To reduce groundnut aflatoxin contamination can be done by using probiotic lactic acid bacteria as fermentation agent to trap aflatoxin. The objective of the research was to find out the possibility of using probiotic lactic acid bacteria to ferment groundnut extract which could trap aflatoxin. The research included activities: (1) selection of lactic acid bacteria for groundnut extract fermentation, (2) determination the ratio of groundnut and water in fermented groundnut extract, (3) storage the fermented groundnut extract on 4°C for 14 days, (4) sensory test of fermented groundnut extract, and (5) fermentation of groundnut extract which was contaminated by aflatoxin using selected culture. Result of research showed that *Lactobacillus acidophilus* SNP2 was selected culture based on capability in reducing pH and sensory properties of fermented groundnut extract. The best ratio between groundnut and water in fermentation process was 1:10 at 37°C for 18 hours produced fermented drinks with pH 3.58 and cell count of 1.94×10^9 CFU/ml. Storage of fermented groundnut extract for more than 9 days, caused the drinks became very sour and more coagulated consistency. Fermentation of groundnut extract contaminated by aflatoxin using *Lactobacillus acidophilus* SNP2 could reduce aflatoxin concentration for 8.55%.

Key words: groundnut extract, fermentation, lactic acid bacteria, aflatoxin

PENDAHULUAN

Produksi kacang tanah di Indonesia meningkat dari tahun ke tahun. Seiring meningkatnya produksi, tingkat konsumsi kacang tanah juga meningkat. Rata-rata konsumsi kacang tanah pada tahun 1993-1997 sebesar 3,10 kg/kapita/tahun, dan pada tahun 1997-2002 meningkat sebesar 4,2%/tahun (Kasno, 2005). Peningkatan produksi dan konsumsi kacang tanah, berpotensi untuk diversifikasi produk kacang tanah. Olahan kacang tanah di Indonesia antara lain kacang rebus dan goreng, kacang telur, kacang oven, rempeyek, ampyang, enting-enting, dan bumbu pecel,

sedangkan yang belum terkenal antara lain susu kacang tanah fermentasi.

Menurut Leung *et al.* (1997) dalam 100 g bahan, kacang tanah dan kulit arinya mengandung protein 15,0 g, niasin 9,7 mg, vitamin C 11,0 mg. Protein terdiri atas asam amino esensial yang tidak dihasilkan oleh tubuh manusia antara lain arginin 1128 mg, fenilalanin 379 mg, histidin 227 mg, isoleusin 315 mg, leusin 460 mg, valin 351 mg serta lisin, metionin, dan triptofan. Kadar lemak sekitar 19,4 g di antaranya mengandung asam lemak tidak jenuh oleat 7,5 g dan linoleat 6,3 g yang bermanfaat mengatasi stroke, memperbaiki dan mempertahankan

struktur otak. Kadar karbohidrat kacang tanah sekitar 21,8 g, serat 1,1 g, mineral kalsium 56 mg, fosfor 245,0 mg, kalium 421 mg, serta beta karoten 20 mg. Kandungan energi kacang tanah sebesar 303 kalori/100 g.

Kacang tanah dan produk olahannya rentan terkontaminasi aflatoksin yang dihasilkan jamur aflatoksigenik seperti *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus*. Aflatoksin yang banyak dihasilkan dengan urutan toksisitas, *carcinogenity*, dan *mutagenity* adalah aflatoksin B₁, B₂, G₁, dan G₂. *Aspergillus flavus* menghasilkan AFB₁ dan AFB₂, sedangkan *A. parasiticus* menghasilkan keempatnya. Aflatoksin B₁ paling berbahaya sehingga dipakai sebagai ambang batas maksimum aflatoksin dalam bahan pangan atau pakan. Amerika, Australia, Belanda, dan Jepang menetapkan kadar aflatoksin 0-20 ppb sebagai salah satu kriteria mutu kacang tanah dan olahannya, sedangkan WHO, FAO, dan UNICEF menetapkan batasan 30 ppb, dan BPOM RI menetapkan AFB₁ maksimum 20 ppb dan aflatoksin total 35 ppb (Ginting *et al.*, 2005).

Kontaminasi aflatoksin terhadap kacang tanah dan produk olahannya melebihi batas maksimum yang ditetapkan BPOM. Survei kacang tanah di petani dan pengumpul di Kabupaten Rembang, Jawa Tengah menunjukkan lima dari 20 sampel mengandung AFB₁ melebihi 20 ppb (Hakim, 2008). Enam belas merek bumbu pecel di Daerah Istimewa Yogyakarta memiliki kadar aflatoksin hingga 121,26 ppb (Rubak, 2007; Rahayu, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa *A. flavus* dan *A. parasiticus* yang banyak terdapat dalam tanah menginfeksi biji kacang tanah, pada semua tingkat perkembangan biji (Ginting *et al.*, 2005) dan tidak hilang selama pengolahan. Cemaran aflatoksin pada kulit ari kacang tanah relatif tinggi karena kedua jamur banyak tumbuh pada permukaan biji. Invasi AFB₁ pada kacang tanah dimulai dari kulit luar/kulit ari (Diener *et al.* 1982).

Berbagai metode dilakukan untuk mengurangi kadar aflatoksin, antara lain dengan cara mikrobiologis menggunakan bakteri. Beberapa strain bakteri asam laktat (BAL) mampu mereduksi aflatoksin melalui mekanisme pengikatan (Zinedine *et al.*, 2005). Menurut Haskard *et al.* (2001), komponen spesifik ini adalah peptidoglikan pada dinding sel BAL. Strain *L. acidophilus* SNP2 menurut Sunanjuntak (2005) mampu mengikat 61,85% aflatoksin dalam media cair. Pengikatan AFB₁ oleh *L. acidophilus* SNP2 efektif bila jumlah sel yang digunakan lebih banyak atau sama dengan 10⁸ CFU/ml (Amanah, 2007). Jumlah minimum sel bakteri untuk mengikat aflatoksin adalah 10⁶ CFU/ml (Bolognani *et al.*, 1997; El Nezami *et al.*, 1998; Line *et al.*, 1995). Dinding sel bakteri pada kondisi asam dapat rusak sehingga AFB₁ lebih mudah berikatan dengan komponen membran sitoplasma. Jumlah aflatoksin yang terikat oleh bakteri lebih banyak pada pH 5,0 dibandingkan

6,0 dan 7,0 (Amanah, 2007). Pada suhu rendah, proses pengikatan aflatoksin berjalan cepat, dan setelah satu jam inkubasi AFB₁ yang terikat terlepas kembali. Kenaikan persentase pengikatan aflatoksin pada suhu 37°C cenderung masih terjadi setelah 24 jam inkubasi (Amanah, 2007).

Beberapa BAL diklaim sebagai bakteri probiotik antara lain *Lactobacillus acidophilus*, *L. reuteri*, *L. casei* dan *Bifidobacterium* karena merupakan mikroflora alami saluran pencernaan. Bakteri probiotik bermanfaat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mencegah pertumbuhan bakteri patogen (Parvez *et al.*, 2006). Efek tersebut muncul jika jumlah bakteri hidup sampai di saluran pencernaan lebih dari 10⁶ CFU/g atau 10⁶ CFU/ml (Kurmam dan Rasic, 1991 dalam Shimakawa *et al.*, 2003). Menurut Codex persyaratan jumlah sel hidup probiotik dalam susu fermentasi minimal 10⁷ CFU/g (Anonymous, 2008), diharapkan dapat mengantisipasi penurunan jumlah sel selama melewati lingkungan ekstrim di pencernaan (Shah, 2000). Syarat bakteri probiotik adalah efek menguntungkan pada inang, bertahan pada makanan dalam jumlah sel yang tinggi, tetap hidup sepanjang umur simpan produk, bertahan sepanjang saluran pencernaan, memproduksi zat antimikrobal melawan patogen, dan menstabilkan mikroflora intestin (Parvez *et al.*, 2006). Probiotik berperan membantu mengawetkan produk karena asam laktat dan senyawa antimikroba, produksi senyawa flavor asetaldehid dan polisakarida ekstraseluler yang membuat karakteristik organoleptik produk disukai konsumen, dan meningkatkan nilai gizi produk dengan adanya asam amino atau sintesis vitamin (Parvez *et al.*, 2006).

Fermentasi laktat pada kacang tanah oleh BAL antara lain telah dilakukan oleh Widowati dan Misgiyarta (2003) menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* dan *L. casei* dengan metode ekstraksi dingin. Keuntungan proses ini adalah jumlah protein lebih tinggi dan emulsi lebih stabil setelah pemanasan, namun *beany flavor* (bau langu) masih kuat, dan larutan menjadi kurang homogen setelah penyaringan. Fermentasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam dan pH 4 dengan penambahan gula 5%, hasilnya meningkatkan asam laktat sebanyak 0,85% dan jumlah sel naik menjadi 10⁶ CFU/ml. Fermentasi BAL pada substrat kacang-kacangan meningkatkan kadar asam laktat dan protein terlarut. Asam laktat memberikan flavor asam sedangkan kadar protein terlarut meningkatkan nilai gizi produk. Susu asam kacang-kacangan hasil fermentasi oleh BAL memiliki tekstur lebih lembut dan aroma yang makin segar.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui potensi penggunaan bakteri asam laktat probiotik dalam mengikat aflatoksin terhadap mutu sari kacang tanah fermentasi yang aman dikonsumsi.

BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan terdiri atas kacang tanah *grade 2* dari pasar Beringharjo, Yogyakarta, sukrosa, dan kultur bakteri koleksi FNCC (*Food and Nutrition Culture Collection*) dari Pusat Antar Universitas-Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta berbentuk ampul terdiri atas *Lactobacillus acidophilus* SNP2; *Lactobacillus plantarum* FNCC-0265; *Lactobacillus bulgaricus* FNCC-0040; *Streptococcus thermophilus* FNCC-0041 dan *Aspergillus flavus* FNCC-0546. Media yang digunakan adalah de Man Rogosa Sharpe, Potato Dextrose Agar, larutan standar AFB₁ dari Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor, Jawa Barat, bahan uji ELISA, agar teknis, CaCO₃, Buffered Pepton Water, Tween 80, dan alkohol.

Alat yang digunakan terdiri atas alat-alat gelas, termometer, pH meter, inkubator, *refrigerator*, vorteks, *coolroom* (4°C), *centrifuge* (Labofuge 200-Heraeus, 220V-65W, 5300 rpm), oven (Heraeus Elektronik Oven, 220V-7,3A-1,6 kW), timbangan, *autoclave*, *waterbath*, laminar flow, haemocytometer, mikroskop, kaca preparat, lampu bunsen, blender, plastik polietilen, box plastik 30 kg, parafilm, alat uji ELISA antara lain: neraca timbang, miniphotometer (Miniphotometer model 6 Metertech Inc), botol pencuci, micropipette dan tip pipet (single dan multichannel), gelas vial, sealer, dan microwells.

B. Metode

Untuk penelitian disiapkan terlebih dahulu sari kacang tanah dan starter seperti diuraikan berikut ini.

1. Pembuatan Sari Kacang Tanah

Proses pembuatan sari kacang tanah berasal dari formula yang dikembangkan oleh pemilik usaha Sari Kedelai. Kacang tanah ditimbang sebanyak 100 g kemudian direndam selama 12 jam. Setelah direndam, kacang tanah kemudian dihilangkan kulit arinya dan diblender dengan menambahkan 500 ml air untuk mempermudah proses penghancuran, selanjutnya disaring menggunakan kain saring. Sari kacang tanah kemudian ditambah gula sebanyak 10% lalu dipanaskan hingga mencapai suhu 100°C. Produk sari kacang tanah kemudian dikemas ke dalam botol dan dipasteurisasi pada suhu 100°C selama lima menit.

2. Pembuatan Starter

Sebelum isolat digunakan dilakukan aktivasi kultur terlebih dahulu dalam media MRS cair (*broth*) yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kultur starter dibuat dalam tabung reaksi. Sebanyak 0,1 ml kultur hasil aktivasi dimokulasikan ke dalam 5 ml MRS cair dan diinkubasi pada

suhu 37°C selama 18 jam. Selanjutnya 1 ml suspensi bakteri dimasukkan ke dalam 4 ml sari kacang tanah dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memperoleh starter pembuatan sari kacang tanah fermentasi.

3. Penelitian Utama

Tahap ini meliputi: (a) seleksi BAL untuk fermentasi sari kacang tanah, (b) penentuan rasio/perbandingan kacang tanah dan air untuk fermentasi sari kacang tanah, (c) fermentasi sari kacang tanah, (d) penyimpanan minuman fermentasi sari kacang tanah pada suhu 4°C selama 14 hari, dan (e) fermentasi sari kacang tanah terkontaminasi aflatoxin menggunakan kultur terpilih. Penelitian didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan jumlah ulangan tiga kali.

a. Seleksi Bakteri Asam Laktat

Isolat (4 spesies BAL) diseleksi untuk memperoleh isolat terpilih untuk tahap selanjutnya. Sari kacang tanah dibuat dengan perbandingan kacang tanah dan air 1:5 dimasukkan ke dalam botol dan difermentasi menggunakan 10% kultur BAL yang berbeda setiap botol, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 27 jam. Penambahan starter 10% berdasarkan uji coba untuk memperoleh susu asam dengan kriteria kenampakan cair, rasa asam tidak terlalu manis, aroma asam oleh 6 panelis terlatih.

b. Seleksi Rasio Kacang Tanah dan Air untuk Fermentasi Sari Kacang Tanah

Seleksi perbandingan kacang tanah dan air 1:5, 1:10, 1:15, dan 1:20 dilakukan untuk membuat minuman fermentasi sari kacang tanah yang sesuai dengan kriteria. Fermentasi dilakukan dengan 10% BAL terpilih pada suhu 37°C selama 27 jam.

c. Fermentasi Sari Kacang Tanah dan Uji Sensorisnya

Setelah diperoleh satu isolat dan satu rasio kacang tanah dan air, dibuat sari kacang tanah yang difermentasi pada suhu 37°C selama waktu terpilih. Untuk menentukan waktu terpilih, dibuat minuman kacang tanah yang difermentasi pada suhu 37°C dengan menggunakan 10% isolat terpilih dengan variasi lama fermentasi 12, 18, dan 24 jam. Pada tahap ini dilakukan uji sensoris untuk mengetahui waktu fermentasi minuman sari kacang tanah yang disukai panelis. Uji sensoris dilakukan oleh 20 panelis semi terlatih. Skala yang digunakan adalah 1 sampai 7.

d. Penyimpanan Sari Kacang Tanah Fermentasi pada Suhu 4°C

Penyimpanan minuman sari kacang tanah fermentasi dilakukan pada suhu 4°C selama 14 hari dan dilakukan uji sensoris produk, pengukuran pH dan penghitungan

jumlah sel starter. Pengamatan sensoris minuman kacang tanah fermentasi: (1) kenampakan (skala: 7 = sangat cair sekali, 6 = cair sekali, 5 = cair, 4 = agak menggumpal, 3 = menggumpal, 2 = menggumpal sekali, 1 = sangat menggumpal sekali), nilai pH, rasa (skala: 1 = sangat manis sekali, 2 = manis sekali, 3 = manis, 4 = kurang manis dan agak asam, 5 = tidak manis dan asam, 6 = sangat asam, 7 = sangat asam sekali), dan aroma (skala: 1 = aroma kacang sangat kuat sekali, 2 = aroma kacang kuat sekali, 3 = aroma kacang kuat, 4 = aroma kacang kurang kuat dan agak asam, 5 = aroma kacang tidak kuat dan asam, 6 = aroma asam sekali, 7 = aroma sangat asam sekali).

e. Fermentasi Sari Kacang Tanah Terkontaminasi Aflatoksin

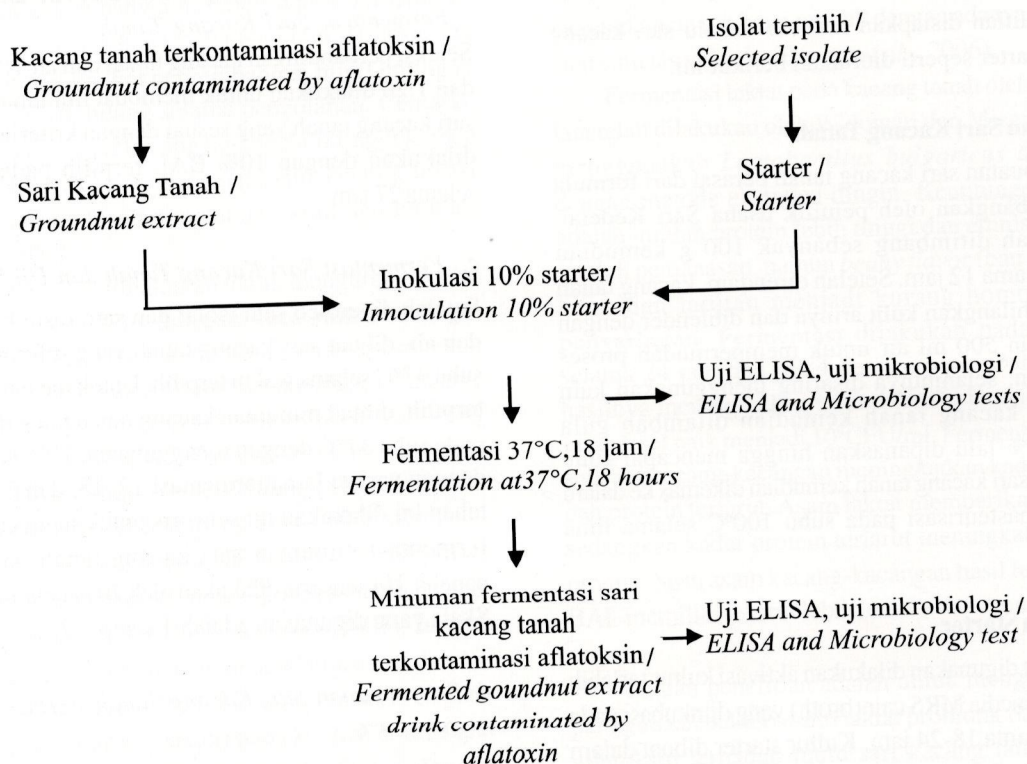
Tahap ini merupakan kegiatan untuk menguji kemampuan bakteri asam laktat potensial probiotik dalam menurunkan aflatoksin dalam kacang tanah. *Aspergillus flavus* yang akan digunakan diperbanyak menggunakan media PDA dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Spora sebanyak 10^8 spora/ml dipanen dengan Tween 80. Selanjutnya sebanyak 20 ml spora diinokulasi pada 20 kg kacang tanah dan diinkubasi selama 1-2 bulan pada suhu ruang. Kacang tanah terkontaminasi aflatoksin kemudian diuji ELISA.

Sari kacang tanah beraflatoksin difermentasi menggunakan isolat terpilih, rasio kacang tanah dan air terpilih selama waktu terpilih pada suhu 37°C (Gambar 1).

Pada tahap ini dilakukan pengukuran kadar aflatoksin pada kacang tanah, sari kacang tanah, dan sari kacang tanah fermentasi dengan metode ELISA.

4. Parameter Pengujian yang Dilakukan Terdiri Atas:

- Pengamatan fisik minuman kacang tanah fermentasi dengan parameter sensoris dengan skala penilaian seperti pada Tahap 3d.
- Pengamatan fisik selama penyimpanan pada hari ke-0, 3, 5, 7, 9, dan 14 mengikuti Cahyono (2006) dengan pengamatan pH dan viabilitas BAL selama penyimpanan pada suhu 4°C. Kriteria parameter yang diterima panelis; kenampakan adalah 5 (cair), rasa adalah 5 (tidak manis dan asam), dan aroma adalah 5 (aroma kacang tidak kuat dan asam). Uji sensoris kesukaan (hedonik) dilakukan dengan skala penilaian 1 sampai 7: (1=sangat tidak suka), (2=tidak suka), (3=agak tidak suka), (4=netral), (5=agak suka), (6=suka), (7=sangat suka).
- Uji mikrobiologi (*Total Plate Count*)
- Uji ELISA
- Analisis kimia, meliputi: (i) kadar air metode thermogravimetri, (ii) kadar lemak metode Soxhlet, (iii) kadar protein metode Mikro-Kjeldal, (iv) kadar abu metode pengabuan langsung, (v) kadar gula reduksi metode Nelson-Somogyi, dan (vi) keasaman metode kadar asam tertitrasi (Horwitz dan Latimer, 2005).



Gambar 1. Fermentasi sari kacang tanah terkontaminasi aflatoksin
Figure 1. Fermentation of groundnut extract contaminated by aflatoxin

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Minuman Sari Kacang Tanah Fermentasi

Proses pembuatan sari kacang tanah dilakukan dengan metode ekstraksi dingin karena akan menghasilkan kadar protein yang tinggi dan sifat emulsi lebih stabil setelah pemanasan. Antisipasi adanya *beany flavor* kacang tanah diminimalkan dengan cara menginaktivkan enzim lipoksigenase dengan cara mengupas kulit arinya dan proses pemanasan pada suhu 80°C serta flavoring dengan gula (aroma sukrosa). Enzim tersebut menyebabkan bau langu pada saat bereaksi dengan lemak saat penggilingan terutama menggunakan air dingin.

Kandungan protein menjadi salah satu parameter minuman fermentasi berdasarkan permintaan pasar serta kriteria sensoris (kenampakan cair, rasa tidak manis dan tidak terlalu asam, dan aroma kacang tidak kuat dan tidak asam). Kandungan protein produk minuman/susu fermentasi komersial yang disurvei di pasar tahun 2008

berkisar 1-4 % dan menurut SNI yogurt/susu asam nomor 01-2981-1992 minimal sebesar 3,5%.

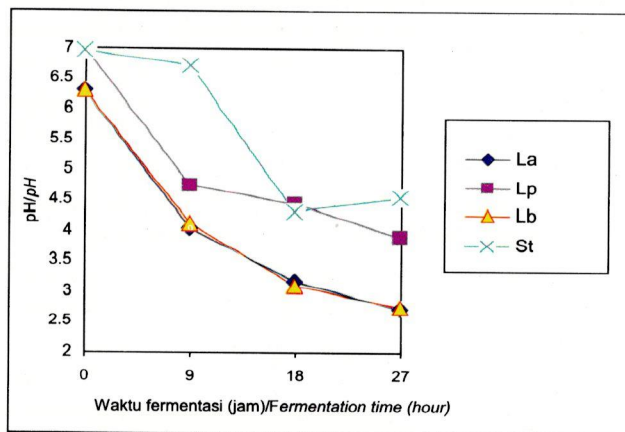
Kriteria yang dikehendaki pada minuman fermentasi sari kacang tanah berdasarkan penilaian organoleptik oleh enam orang panelis terlatih adalah kenampakan cair; rasa asam, tidak terasa manis; dan aroma asam. Kriteria sensoris tercapai ketika sari kacang tanah fermentasi ada pada interval pH 3 sampai 4.

1. Seleksi Bakteri Asam Laktat

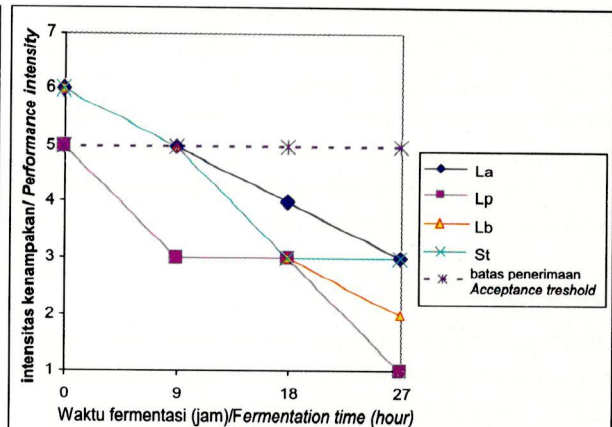
Produksi asam oleh BAL dalam media tergantung pada kemampuan bakteri memfermentasi karbohidrat. Parameter untuk memilih isolat untuk fermentasi adalah penurunan pH paling cepat dan sensoris sari kacang tanah fermentasi yang dikehendaki.

a. Tingkat Keasaman

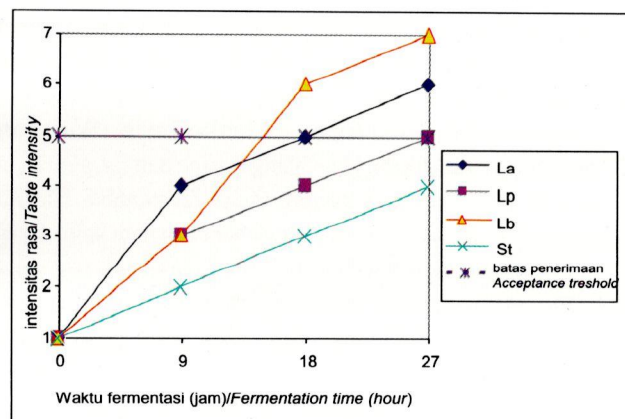
Tingkat keasaman (pH) sari kacang tanah selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2a. Pola penurunan



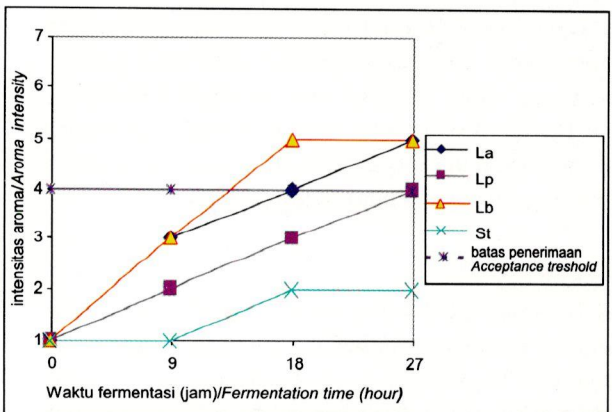
(a) pH/pH



(b) Kenampakan/performance



(c) Rasa/taste



(d) Aroma/aroma

2a-d. Nilai pH, kenampakan, rasa dan aroma sari kacang tanah pada fermentasi suhu 37°C selama 27 jam oleh bakteri asam laktat.

4, performance, taste and aroma of fermented groundnut extract at 37°C for 27 h by lactic acid bacteria

La=*L. acidophilus*, Lp=*L. plantarum*, Lb=*L. bulgaricus*, St=*S. thermophilus*

pH sari kacang tanah yang difermentasi *S. thermophilus* adalah lambat, sedangkan *Lactobacillus plantarum* menurunkan pH sari kacang tanah dengan cepat, kemudian melambat. Sari kacang tanah yang difermentasi *L. acidophilus* dan *L. bulgaricus* mengalami penurunan pH secara drastis. Pola penurunan pH kedua jenis bakteri adalah sama.

Pertumbuhan *S. thermophilus* lambat dengan produksi asam yang rendah sehingga nilai penurunan pH sari kacang tanah paling kecil. Hal ini karena *S. thermophilus* hanya menggunakan glukosa dan sukrosa sebagai sumber energi dan tidak dapat memetabolisme raffinosa dan stakiosa. Mital dan Steinkraus (1974; 1975) melaporkan pada fermentasi susu kedelai menggunakan *S. thermophilus* tidak mengubah kandungan raffinosa dan stakiosa.

Lactobacillus acidophilus dan *L. plantarum* mampu menggunakan sukrosa, raffinosa, dan stakiosa dalam sari kacang tanah sebagai sumber karbon (Mital dan Steinkraus, 1974). Kandungan gula yang banyak terdapat pada kacang tanah adalah sukrosa, stakiosa, dan raffinosa (Patte dan Young, 1982). Menurut Beuchat (1978), *L. acidophilus* lebih efektif menggunakan stakiosa dan raffinosa sebagai sumber karbon karena memiliki enzim α -galaktosidase yang menghidrolisis raffinosa dan stakiosa pada kacang tanah menjadi glukosa, fruktosa, dan galaktosa (Mital dan Steinkraus, 1975).

b. Kenampakan

Kenampakan sari kacang tanah selama fermentasi yang diamati secara sensoris disajikan pada Gambar 2b. Pada jam ke-18, seluruh sari kacang tanah fermentasi tampak menggumpal. Penyebab menggumpalnya sari kacang tanah setelah fermentasi adalah adanya denaturasi protein oleh asam terutama asam laktat yang dihasilkan oleh mikroba starter. Denaturasi protein terjadi karena panas, asam, bahan kimia, mekanik, dan sebagainya (Winarno, 2002). Berdasarkan hasil ini, perlu formulasi rasio kacang tanah dan air untuk menghasilkan minuman fermentasi sari kacang tanah yang tidak menggumpal.

c. Rasa dan Aroma

Rasa dan aroma sari kacang tanah ditimbulkan oleh asam laktat yang diproduksi oleh BAL. Asam laktat menimbulkan rasa spesifik dan unik, tajam, dan beraroma asam (Tamime dan Robinson, 1985). Rasa dan aroma sari kacang tanah fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2c dan 2d.

Pada jam ke-9, seluruh sari kacang tanah fermentasi rasanya dominan manis dan aroma kacang yang kuat. Rasa sari kacang tanah yang difermentasi *L. bulgaricus* menjadi sangat asam pada jam ke-18, sedangkan sari kacang tanah

yang difermentasi *L. acidophilus* menghasilkan rasa dan aroma asam yang sedang. Rasa sari kacang tanah yang difermentasi *L. plantarum* dan *S. thermophilus* masih manis dengan aroma kacang yang kuat. Berdasarkan kemampuan menurunkan pH paling cepat dan sensoris sari kacang tanah sesuai dengan kriteria, maka untuk penelitian selanjutnya dipergunakan *L. acidophilus*.

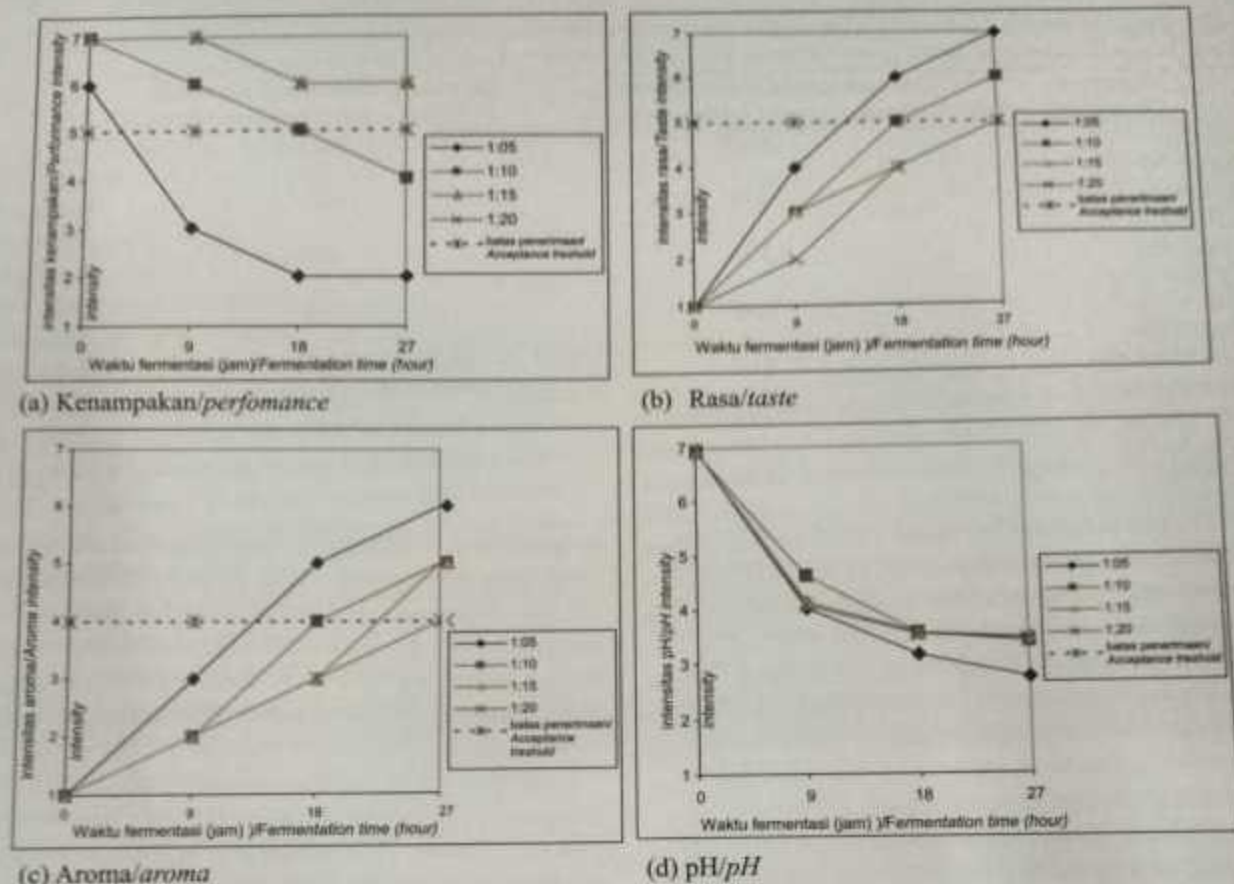
2. Rasio Kacang Tanah dengan Air pada Fermentasi Sari Kacang Tanah

Berdasarkan hasil seleksi BAL, seluruh kenampakan sari kacang tanah fermentasi menggumpal. Seleksi rasio kacang tanah dengan air dilakukan menggunakan *L. acidophilus*. Parameter untuk menetapkan rasio terpilih adalah bentuk sari kacang tanah fermentasi yang cair dengan kadar protein yang tinggi.

Kenampakan sari kacang tanah dengan rasio kacang tanah dan air 1:5, 1:10, 1:15, dan 1:20 setelah fermentasi dipengaruhi oleh kadar protein. Pada rasio kacang tanah dan air yang semakin rendah, konsentrasi protein di dalam sari kacang tanah menjadi semakin tinggi. Oleh karena itu semakin tinggi kadar protein, jumlah protein yang terdenaturasi oleh asam selama fermentasi makin banyak sehingga sari kacang tanah memiliki kenampakan yang menggumpal. Kadar protein sari kacang tanah pada rasio kacang tanah dan air 1:5, 1:10, 1:15, dan 1:20 berturut-turut adalah 1,887%, 0,905%, 0,604% dan 0,546%.

Kenampakan sari kacang tanah rasio 1:5 menggumpal pada jam ke-9. Hal ini karena kadar protein sari kacang tanah rasio 1:5 paling tinggi dibanding yang lain. Pada jam ke-18, sari kacang tanah rasio 1:10, 1:15, 1:20 tampak cair, dan sari kacang tanah rasio 1:10 memiliki kadar protein paling tinggi. Hasil uji statistik penilaian panelis terhadap aroma sari kacang tanah menunjukkan bahwa panelis tidak memberikan penilaian yang berbeda pada semua tingkat rasio. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh aroma kacang tanah yang masih tercium (*beany flavor*) yang dihasilkan dengan menggunakan metode ekstraksi dingin (Widowati dan Misgiyarta, 2003). Hasil yang serupa dengan penilaian panelis pada rasa sari kacang tanah fermentasi. Hal ini karena jumlah sukrosa yang ditambahkan sama yaitu 10%.

Selama fermentasi tampaknya jumlah sukrosa yang belum difermentasi masih banyak, sehingga masih cenderung memiliki rasa yang relatif sama pada semua rasio kacang tanah dan air. Hal ini tampak pada nilai pH sari kacang tanah fermentasi tidak berbeda pada semua tingkat rasio. Kenampakan, rasa, aroma dan pH sari kacang tanah rasio 1:5, 1:10, 1:15, dan 1:20 pada fermentasi 37°C selama 18 jam oleh *L. acidophilus* disajikan pada Gambar 3a-d. Berdasarkan kenampakan sari kacang tanah yang menggumpal pada rasio 1:5 dan 1:10, maka dipilih rasio kacang tanah dan air 1:10 untuk fermentasi sari kacang tanah.



Gambar 3a-d. Kenampakan, rasa, aroma dan pH sari kacang tanah rasio kacang tanah dan air 1:5, 1:10, 1:15, dan 1:20 pada fermentasi suhu 37°C selama 18 jam oleh *L. acidophilus*

Figure 3a-d. Performance, taste, aroma and pH of fermented groundnut extract with ratio between groundnut and water 1:5, 1:10, 1:15, and 1:20 at 37°C for 18 h by *L. acidophilus*

Keterangan/Remarks: 7=sangat cair sekali/most liquid, 6=cair sekali/very liquid, 5=cair/liquid, 4=agak menggumpal/almost coagulated, 3=menggumpal/coagulated, 2=menggumpal sekali/very coagulated, 1=sangat menggumpal sekali/most coagulated

3. Produk Minuman Fermentasi Sari Kacang Tanah dan Uji Sensoris

Fermentasi sari kacang tanah dengan rasio kacang tanah dan air 1:10 pada suhu 37°C selama 18 jam oleh *L. acidophilus* menghasilkan pH minuman fermentasi sari

Tabel 1. Hasil uji mikrobiologi dan pH sari kacang tanah
Table 1. Microbiology analysis and pH of fermented groundnut extract

Pengamatan	Sari kacang tanah sebelum fermentasi Groundnut extract before fermentation	Sari kacang tanah setelah fermentasi Groundnut extract after fermentation
Jumlah sel Cell counts	$6,15 \times 10^8$	$1,94 \times 10^9$
pH/pH	6,8	3,58

Keterangan/remarks: Rasio kacang tanah dan air 1:10 pada fermentasi suhu 37°C selama 18 jam oleh *L. acidophilus*
Ratio between groundnut extract and water 1:10 at 37°C for 18 hours by *L. acidophilus*

kacang tanah 3,58 dengan jumlah sel $1,9 \times 10^9$ CFU/ml (Tabel 1). Rendahnya pH disebabkan karena kadar gula yang ditambahkan cukup tinggi 10%. Pada pH rendah *L. acidophilus* dapat tumbuh baik, tampak pada jumlah sel yang banyak yaitu $9,3 \times 10^8$ CFU/ml. Tingginya jumlah sel *L. acidophilus* SNP2 karena bakteri ini diisolasi dari feses yang memiliki pH rendah sehingga dapat bertahan hidup.

Dibandingkan dengan hasil penelitian Widowati dan Misgiyarta (2003), penelitian ini memperoleh waktu fermentasi lebih pendek yaitu 18 jam, jumlah sel yang sama yaitu 10^9 CFU/ml dan pH akhir yang lebih rendah yaitu 3,58, karena gula yang ditambahkan lebih tinggi. Semakin banyak gula pada substrat, makin banyak glukosa yang dimetabolisme sehingga produksi asam laktat lebih tinggi. Jumlah asam laktat yang tinggi dapat meningkatkan keasaman dan menurunkan pH substrat. Hasil analisis proksimat sari kacang tanah sebelum dan sesudah fermentasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi proksimat sari kacang tanah sebelum dan sesudah fermentasi

Tabel 2. Proximate analysis of extract groundnut before and after fermentation

Komponen <i>Compound</i>	Sari kacang tanah sebelum fermentasi <i>Groundnut extract before fermentation</i>	Sari kacang tanah setelah fermentasi <i>Groundnut extract after fermentation</i>
Air (%)	83,67	84,33
Water (%)		
Abu (%)	0,21	0,21
Ash (%)		
Lemak (%)	2,23	2,19
Fat (%)		
Protein (%)	2,46	2,42
Protein (%)		
Karbohidrat (%)	11,4	10,84
Carbohydrate (%)		
Gula reduksi (%)	1,60	0,28
Reducing sugar (%)		
Keasaman (meq/100 g)	0,54	7,41
Acidity (meq/100 g)		

Tabel 2 menunjukkan bahwa kadar protein sari kacang tanah sudah ada pada kisaran kadar protein minuman fermentasi hasil survei pasar tahun 2008 terhadap susu fermentasi komersial yaitu 1–4% dan SNI yogurt nomor 01-2981-1992 (Dewan Standardisasi Nasional, 1992). Penurunan kadar gula reduksi selama fermentasi terjadi karena gula tersebut digunakan oleh *L. acidophilus* untuk pertumbuhan. Keasaman minuman meningkat karena adanya asam laktat hasil metabolisme glukosa oleh *L. acidophilus* terakumulasi dalam cairan fermentasi. Data uji sensoris menunjukkan panelis memberikan penilaian yang sama terhadap aroma minuman fermentasi sari kacang tanah yang dihasilkan pada ketiga lama waktu fermentasi (Tabel 3).

Untuk rasa minuman fermentasi sari kacang tanah, panelis memberikan penilaian lebih tinggi pada produk dengan lama fermentasi 12 jam, hal ini menunjukkan panelis menyukai rasa minuman fermentasi sari kacang tanah tersebut. Pada jam ke-12, minuman fermentasi sari kacang tanah masih memiliki rasa manis karena sebagian besar sukrosa belum difermentasi menjadi asam laktat. Panelis tidak memberikan penilaian yang berbeda terhadap rasa minuman fermentasi sari kacang tanah yang difermentasi selama 18 dan 24 jam.

Tabel 3 menunjukkan kenampakan minuman sari kacang tanah yang difermentasi selama 12 jam tidak berbeda

dengan 18 jam, sedangkan minuman fermentasi sari kacang tanah yang difermentasi selama 18 jam berbeda dengan 24 jam. Kenampakan dipengaruhi oleh lama waktu fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak asam yang dihasilkan. Pada yogurt, banyaknya asam laktat yang dihasilkan menentukan kenampakan dan tekstur yogurt (Chandan dan Shahani, 1993).

Berdasarkan keseluruhan parameter sensoris, panelis menyukai minuman sari kacang tanah yang difermentasi selama 12 jam. Oleh karena itu sari kacang tanah selanjutnya difermentasi pada suhu 37°C selama 12 jam.

4. Penyimpanan Produk Minuman Fermentasi Sari Kacang Tanah pada Suhu 4°C

Tahap ini bertujuan untuk mengetahui perubahan jumlah sel, pH, dan sifat sensoris minuman fermentasi sari kacang tanah selama penyimpanan. Hasil uji mikrobiologis penghitungan jumlah sel di dalam minuman sari kacang tanah fermentasi pada penyimpanan suhu 4°C adalah $2,28 \times 10^9$ CFU/ml selama nol hari, $1,44 \times 10^9$ CFU/ml selama 7 hari, dan $1,87 \times 10^9$ CFU/ml selama 14 hari. Tampak bahwa setelah penyimpanan selama 14 hari, jumlah sel pada minuman fermentasi sari kacang tanah masih dalam 1 siklus log. Hasil yang sama dilaporkan Tang *et al.* (2007), pada proses fermentasi susu kedelai, jumlah sel bakteri

Tabel 3 Hasil analisa statistik uji sensoris

Table 3. Analysis of sensory test

Lama fermentasi <i>Length of fermentation</i>	Kenampakan <i>Performance</i>	Aroma <i>Aroma</i>	Rasa <i>Taste</i>	Keseluruhan <i>General conclusion</i>
12 jam (h)	4,7 ^{ab}	3,8 ^a	4,9 ^b	4,55 ^b
18 jam (h)	4,4 ^a	3,65 ^a	3,9 ^a	3,70 ^a
24 jam (h)	5,15 ^b	3,3 ^a	3,35 ^a	3,45 ^a

Keterangan/Remarks: notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata (P d" 0,05)/different notation in the same column showed significant definite (P d" 0,05)

Skala penilaian /hedonic scale: 1= sangat tidak suka/extremed dislike, 2= tidak suka/dislike, 3= agak tidak suka/rather dislike, 4= netral/neutral, 5= agak suka/rather like, 6=suka/like, dan/and 7= sangat suka/extremed like.

Tabel 4. Hasil uji ELISA pada kacang tanah dan produknya (n=2 kali)
 Tabel 4. ELISA analysis result on groundnut and products (n=twice)

Perlakuan Treatments	Kadar AFB ₁ (ppb) AFB ₁ contain (ppb)	Jumlah sel (CFU/ml) Cell counts (CFU/ml)
Kacang tanah Groundnut	88,1	-
Sari kacang tanah Groundnut extract	2,69	1,9x10 ⁸
Sari kacang tanah fermentasi Fermented groundnut extract	2,46	2,2x10 ⁹
% penurunan AFB ₁ pada sari kacang tanah setelah fermentasi = 8,55 %		
% reduction of AFB ₁ on fermented groundnut extract = 8.55%		

Lactobacillus bertahan pada 10¹⁰ CFU/ml setelah penyimpanan dingin selama 14 hari. Hal ini menunjukkan sel tidak melakukan metabolisme selama penyimpanan dingin. Nilai pH minuman fermentasi sari kacang tanah selama penyimpanan relatif tetap.

Sifat sensoris minuman fermentasi sari kacang tanah pada penyimpanan 7 hari adalah asam dan tampak cair, menjadi sangat asam dan tampak menggumpal pada hari ke-9. Rasa yang sangat asam dan kenampakan yang menggumpal disebabkan oleh akumulasi asam laktat hasil metabolisme *L. acidophilus* selama penyimpanan. Berdasarkan kriteria sifat sensori, minuman fermentasi sari kacang tanah dapat dikonsumsi hingga hari ke-7 pada penyimpanan suhu 4°C.

5. Fermentasi Sari Kacang Tanah Terkontaminasi Aflatoksin

Penurunan kadar AFB₁ pada sari kacang tanah setelah fermentasi adalah sebesar 8,55%. Menurut Simanjuntak (2005), *L. acidophilus* SNP2 dapat menurunkan kadar AFB₁ hingga 61,85 % pada media cair. Konsentrasi aflatoksin B₁ dalam media mempengaruhi jumlah penurunan kadar AFB₁ oleh bakteri tersebut. Tabel hasil pengujian kadar AFB₁ dengan ELISA dapat dilihat pada Tabel 4.

Meskipun dalam medium terdapat aflatoksin B₁, *L. acidophilus* tetap tumbuh, dan terjadi penambahan jumlah sel setelah fermentasi (Tabel 4). Berdasarkan jumlah sel, *L. acidophilus* SNP2 efektif mengikat aflatoksin. Penelitian Amanah (2007) menunjukkan bahwa pengikatan AFB₁ oleh *L. acidophilus* SNP2 efektif bila jumlah sel yang digunakan lebih dari atau sama dengan 10⁹ CFU/ml. Haskard *et al.* (2001) menyebutkan komponen dinding sel untuk pengikatan aflatoksin oleh bakteri adalah peptidoglikan. Namun besarnya pengikatan aflatoksin juga dipengaruhi oleh konsentrasi AFB₁ dalam substrat (Amanah, 2007). Semakin banyak aflatoksin di sekitar sel, semakin besar interaksi aflatoksin dan sel untuk berikatan.

Konsentrasi AFB₁ dalam sari kacang tanah adalah 2,69 ppb. Simanjuntak (2005) menguji pengikatan

aflatoksin dengan aflatoksin murni konsentrasi 500 ppb dalam media cair. Perbedaan kadar aflatoksin dalam media menyebabkan perbedaan hasil dalam penurunan kadar AFB₁ meskipun bakteri yang digunakan sama. Perbedaan metode yang digunakan juga berpengaruh. Simanjuntak menggunakan aflatoksin murni, sedangkan penelitian ini menggunakan kacang tanah berafatoksin yang diekstrak.

Kadar AFB₁ pada kacang tanah untuk membuat sari kacang tanah adalah tinggi yaitu 88,1 ppb. Setelah dibuat sari kacang tanah kadar AFB₁ turun menjadi 2,69 ppb. Hilangnya AFB₁ selama pembuatan sari kacang tanah kemungkinan disebabkan karena aflatoksin tertinggal dalam padatan selama ekstraksi. Aflatoksin B₁ bersifat non polar, sedangkan pelarut air yang digunakan pada ekstraksi bersifat polar. Perbedaan kelarutan ini menyebabkan rendahnya AFB₁ yang terlarut dalam sari kacang tanah.

KESIMPULAN

1. Bakteri asam laktat terpilih adalah *Lactobacillus acidophilus* SNP-2.
2. Rasio kacang tanah dan air terpilih untuk membuat minuman sari kacang tanah fermentasi adalah 1:10.
3. Fermentasi sari kacang tanah pada suhu 37°C selama 18 jam menghasilkan minuman sari kacang tanah fermentasi dengan pH 3,58 dan jumlah sel 1,94 x 10⁹CFU/ml.
4. Jumlah sel dan pH pada minuman sari kacang tanah fermentasi selama penyimpanan 4°C selama 14 hari relatif tetap, dan masih dapat dikonsumsi hingga hari ke-7.
5. Minuman sari kacang tanah fermentasi yang disukai panelis adalah yang difermentasi pada suhu 37°C selama 12 jam.
6. *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 dapat mengikat AFB₁ selama fermentasi sari kacang tanah dengan penurunan konsentrasi AFB₁ sebesar 8,55%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Dr Endang Sutriswati Rahayu selaku penanggung jawab kegiatan penelitian kerjasama/KKP3T dana APBN Badan Litbang Pertanian-Departemen Pertanian TA 2007, serta Lies Lina Yunitawati, Alumnus Fakultas Teknologi Pertanian UGM.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2008. <http://www.codexalimentarius.com/codex> stan 243-2003 diakses tanggal 3 Juli 2008.
- Amanah, H.Z. 2007. Studi faktor-faktor yang berpengaruh pada pengikatan aflatoksin B₁ oleh bakteri asam laktat strain *Lactobacillus Acidophilus* SNP-2. Tesis S2. Ilmu dan Teknologi Pangan UGM. Yogyakarta. p.86.
- Beuchat, L.R. 1978. Fermentation of Peanut milk with *Lactobacillus bulgaricus* and *L. acidophilus*. *JFS* Vol.43 no.4 Juli 1978: 1109-1112.
- Bolognani, F., C. J. Runmeyer, and I. R. Rowland. 1997. Influence of carcinogen binding by lactic acid producing bacteria on tissue distribution and *in vivo* mutagenicity of dietary carcinogens. *Food Chem. Toxicol.* 35 :535-545.
- Cahyono, T. 2006. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Pada Susu Kedelai dan Pengembangannya untuk Produk Sinbiotik. Skripsi S-1. Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Yogyakarta. p.55.
- Chandan, R.C. and K.M.Shahani.1993. Yoghurt, *In*. Dairy Science and Technology Handbook-2- Product Manufacturing, Hui (Ed).1993.VCH Publishers, Inc.New York.p-56.
- Dewan Standardisasi Nasional. 1992. SNI Yoghurt (SNI 01-2981-1992.1992). Dewan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Diener, U.L., R.E. Petit and R. J. Cole. 1982. Aflatoxins and Other Mycotoxins in Peanuts dalam Pattee, H.E., and C. T. Young, 1982. Peanuts Science and Technology, Americans Peanut Research and Education Society, Texas, USA.
- El Nezami, H., P.E.Kankaanpaa, S. Salminen and J. Ahokas. 1998. Ability of dairy strain of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen aflatoksin B₁. *Journal of Food and Chemical Toxicology* 36 :321-326.
- Ginting, E., A. A. Rahmiana dan Eriyanto Y. 2005. Pengendalian Kontaminasi Aflatoksin pada Produk Olahan Kacang Tanah Melalui Penanganan Pra dan Pasca Panen. Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Jakarta.
- Hakim, L. 2007. Tingkat Cemaran Aflatoksin B₁ Pada Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea* L.) di Kabupaten Rembang Propinsi Jawa Tengah. Skripsi S-1. Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Haskard, C. A., H. S. El Nezami, P.E. Kankaanpaa, S. Salminen and T. Ahokas. 2001. Surface binding of aflatoksin B₁ by Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (7):3086-3091.
- Horwitz, W. and Latimer, G.W. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC. 18th ed. Revised 2006. AOAC International, Maryland, USA.
- Kasno, A. 2005. Profil dan Perkembangan Teknik Produksi Kacang Tanah di Indonesia. Seminar Rutin Puslitbang Tanaman Pangan. Bogor, 25 Mei 2005.
- Leung, W.T.W, R.R. Butrum, F.H. Chang, M.N. Rao and W. Polacchi. 1997. Food Composition Table for Use in East Asia. FAO, Rome, Italy, and US Dept Health, Education, and Welfare, Washington, DC, USA. http://www.fao.org/infoods/tables_asia_en.stm. Diakses tanggal 30 Oktober 2008.
- Line, J.E., R.E. Brackett and R.E. Wilkinson. 1995. Evidence for degradation of aflatoxin B₁ by *Flavobacterium auriacum*. *Journal of Food Protection* 57(9):788-791
- Mital and Steinkraus. 1974. Growth of lactic acid bacteria in soymilks. *J. Food Science* Vol.39, 100-104
- Mital and Steinkraus. 1975. Utilization of oligosaccharides by lactic acid bacteria during fermentation of soymilk. *J. Food Science* Vol.40, 114-117
- Parvez, S., Malik, K.A., Ah Kang, S., and Kim, H.Y. 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health.
- Patte, H.E. and C.T. Young, 1982. Peanut Science and Technology. American Peanut Research and Education Society. Yoakum, Texas.
- Rahayu, E.S. 2007. Laporan Kegiatan Peningkatan Produksi dan Keamanan Pangan pada Komoditi Jagung dan Kacang Tanah. Kerjasama antara Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada melalui Program PHK-B, Jurusan TPHP dan Dinas Pertanian Tanaman Pangan Propinsi Jawa Tengah.
- Rubak, T.Y. 2007. Reduksi Aflatoksin B₁ (AFB₁) dengan Proses Fermentasi Menggunakan *Rhizopus oligosporus* MK-1 pada Pembuatan Bumbu Pecel. Tesis S2. Ilmu dan Teknologi Pangan UGM. Yogyakarta.
- Simanjuntak, R. 2005. Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Mengikat Aflatoksin. Tesis S-2. PS Ilmu dan Teknologi Pangan. Universitas Gadjah Mada. p.59.
- Shah, P.Nagendra., 2000. Probiotics bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal Dairy Science* 83:894-907.
- Shimakawa, Y., S. Matsubara, N. Yuki, M. Ikeda, and F. Ishikawa, 2003. Evaluation of *Bifidobacterium brece* strain Yakult-fermented soymilk as probiotics food. *Int. J. Food Microbiology* 81 (2003) 131-136.
- Tamime, A.Y. and R.K.Robinson.1985.Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press, New York.
- Tang, A.L., N.P. Shah, G. Wilcox, K.Z. Walker, and L. Stojanovska. 2007. Fermentation of calcium-fortified soymilk with *lactobacilli*. *J.Food Sci.* 9:431-436.
- Widowati, S. dan Misgiyarta. 2003. Efektivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/Susu Nabati. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Hal: 360-373.
- Winarno, F.G. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yunitawati, L.L. 2008. Fermentasi Laktat Sari Kacang Tanah sebagai Bentuk Diversifikasi Produk. Skripsi S-1. Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Yogyakarta. P. 82.
- Zinedine, A., M. Faïd and M. Benlemih, 2005. In vitro reduction of aflatoxin B₁ by strain of lactic acid bacteria isolated from Morocco sourdough bread. *Int. Journal of Agriculture and Biology* 7(1):67-70.