

Kemampuan Bakteri Asam Laktat Dalam Menghambat Pertumbuhan dan Produksi Aflatoksin B₂ *Aspergillus flavus*

Arina Tri Lunggani

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA Undip

Abstract

Aflatoxins are highly toxic secondary metabolites produced during the growth of several fungi, especially Aspergillus flavus. AFB₁ and AFB₂ one of them which contaminates a wide variety of food and feed causing serious health problem when consumed by human or animals. This research was aimed to study the potency of Lactic Acid Bacteria (LAB) in the inhibition of Aspergillus flavus growth and the production of Aflatoxin B₂. Three species of LAB i.e. Lactobacillus delbrueckii, L. fermentum, L. plantarum were investigated for their potential in inhibiting and degradation of Aflatoxin B₂ as well as inhibiting fungal growth. The trial was designed into three variations of each isolate by challenging the fungal culture, before fungal inoculation, at the same time as fungal inoculation and after fungal inoculation. It was found that all the three species of LAB are potential microorganism to inhibit fungal growth as indicated by the reduction of the dry weight of fungal mycelia compared with control. Quantification of Aflatoxin B₂ showed that L. fermentum gave the strongest degradation of Aflatoxin B₁ during 15 days incubation, then followed by L. plantarum and L. delbrueckii with a reduction rate of 0,2408 ppm, 0,3373 ppm, 0,6393 ppm respectively, compared with control these are significantly different. These result conclude that Aflatoxin B₂ can be degraded or prevented to be produced by A. flavus by applying LAB.

Key words : Aflatoksin, *Aspergillus flavus*

PENDAHULUAN

Aflatoksin adalah suatu metabolit sekunder yang terbentuk setelah fase logaritmik pertumbuhan kapang *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus* (Mehan *et al*, 1991). Indonesia yang beriklim tropis, kontaminasi aflatoksin sering ditemukan pada produk-produk pertanian dan hasil olahan. Selain itu, residu aflatoksin dan metabolitnya juga ditemukan pada produk-produk peternakan seperti susu, telur dan daging ayam (Oatley *et al*, 2000, Maryam, 1996). Aflatoksin merupakan salah satu jenis mikotoksin yang bersifat toksigenik, mutagenik, teratogenik, dan karsinogenik (Makfoeld, 1993). Aflatoksin terdiri dari 4 komponen induk yaitu, aflatoksin B₁ (AFB₁), aflatoksin B₂ (AFB₂), aflatoksin G₁ (AFG₁) dan aflatoksin G₂ (AFG₂). Di antara keempat jenis aflatoksin ini, diketahui aflatoksin B₁ (AFB₁) dan aflatoksin B₂ (AFB₂) termasuk yang berbahaya, sehingga pengembangan penelitian banyak difokuskan pada aflatoksin jenis ini. (Coallier & Idzack, 1985; Makfoeld, 1993).

Resiko kesehatan yang ditimbulkan jika konsumen mengkonsumsi produk yang telah terkontaminasi *A. flavus* dan aflatoksin ini sangat besar, sedangkan proses pengolahan makanan tradisional belum dapat menghilangkan cemaran aflatoksin sampai batas aman. Oleh karena itu perlu diupayakan suatu metode kombinasi secara biologis, dengan terus melakukan eksplorasi dan skrining mikroba kompetitor yang memenuhi standar "food grade" dan mampu menurunkan kadar aflatoksin (Bata & Lasztity, 1999; Nezami *et al*, 2000).

Kelompok bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroba yang diharapkan mampu untuk dijadikan sebagai alternatif solusi masalah kontaminasi *A. flavus* termasuk produksi aflatoksinnya. *Lactobacillus rhamnosus* dan *Propionobacterium* yang termasuk bakteri asam laktat diketahui mampu mendegradasi aflatoksin B₁ dan aflatoksin B₂ dari usus ayam (Nezami *et al*, 2000). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kelompok bakteri asam laktat (*Lactobacillus delbrueckii*, *L. fermentum* dan *L.*

plantarum) dalam menghambat pertumbuhan dan produksi AFB₂ dari *Aspergillus flavus*.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ber Bahan upa kultur murni *Aspergillus flavus* dan bakteri asam laktat (*Lactobacillus delbruekii*, *L. fermentum* dan *L. plantarum*) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi UGM, Yogyakarta. Ketiga bakteri laktat tersebut ditumbuhkan pada medium LTA ("Lablemco Trypton Agar") dan LTB. Ketiga bakteri laktat yang digunakan dalam penelitian diaktivasi lebih dulu.

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Pembuatan kurva tumbuh *Lactobacillus delbruekii*, *L. fermentum* dan *L. plantarum*
- Esei mikrobiologi BAL dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus* dan aflatoxin B₂ (Coolier & Idzack, 1985). Metode ini pada prinsipnya menumbuhkan kedua jenis mikroba tersebut di dalam satu medium kemudian diinkubasikan selama 15 hari dengan fermentasi permukaan (kultur statis). Setelah waktu inkubasi yang telah ditentukan tercapai, dilakukan pengukuran pertumbuhan *A. flavus* dan produksi Aflatoxin B₂ oleh *A. flavus*
- Ekstraksi Aflatoxin B₂ (Coolier & Idzack, 1985).
- Analisis Aflatoxin B₂ secara kualitatif (Coolier & Idzack, 1985). Analisis aflatoxin secara kualitatif dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan membandingkan R_f standar aflatoxin dengan R_f sampel.
- Analisis Aflatoxin B₂ secara kuantitatif (Coolier & Idzack, 1985).

Analisis kuantitatif untuk mengukur kadar aflatoxin dilakukan dengan metode secara langsung yaitu dengan melewati pelat kromatogram pada Camag TLC Scanner II yang dilengkapi dengan komputer untuk analisisnya (IBM model 50 dengan CATS Software). Hasil pengukuran akan menunjukkan garis integrasi yang sebanding dengan kadar aflatoxin yang diukur.

Penelitian dilakukan dengan membuat 2 variasi perlakuan:

- Waktu pemberian inokulum BAL pada medium LTC :
 A₁ : *A. flavus* ditumbuhkan lebih dulu pada medium sebelum dicampur dengan kultur BAL.
 A₂ : BAL ditumbuhkan lebih dulu pada medium sebelum dicampur dengan spora *A. flavus* ; A₃ : BAL dan spora kapang *A. flavus* ditumbuhkan pada waktu yang bersamaan pada medium pertumbuhan
- Jenis BAL yang digunakan :
 L₁ : *L. delbruekii* : L₂ : *L. fermentum* : L₃ : *L. plantarum*
- Jadi kombinasi perlakuan yang dilakukan adalah :
 A₁L₁, A₁L₂, A₁L₃
 A₂L₁, A₂L₂, A₂L₃
 A₃L₁, A₃L₂, A₃L₃
 Sebagai Kontrol adalah pengukuran pertumbuhan *A. flavus* dan produksi Aflatoxin B₂ pada medium LTC tanpa penambahan kultur BAL

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh Bakteri asam laktat terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus*.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui walaupun di dalam medium pertumbuhannya terdapat mikroba lain, yaitu bakteri asam laktat yang dapat bersifat sebagai kompetitor dan juga perubahan konsentrasi substrat yang terlarut di dalam medium, *A. flavus* masih mampu untuk tetap "survive" (bertahan hidup) yang dibuktikan dengan adanya penambahan biomasa selama 15 hari waktu inkubasi, meskipun jumlahnya mengalami reduksi dibandingkan kontrol. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui pula bahwa masing-masing spesies bakteri asam laktat mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menekan pertumbuhan *A. flavus*. Species yang berbeda ini pada dasarnya mempunyai pola metabolisme yang berbeda pula. *L. delbruekii* dan *L. plantarum* yang tergolong bakteri asam laktat homofermentatif melakukan jalur katabolisme glukosa melalui jalur Embden Meyerhoff Parnas (EMP) atau disebut juga dengan glikolisis. *L.*

fermentum yang tergolong bakteri asam laktat heterofermentatif tidak memiliki enzim utama jalur glikolisis yaitu aldolase, untuk melakukan katabolisme glukosa melalui jalur fosfoketolase (Fardiaz, 1988; Lehniger, 1994).

Walaupun diinokulasikan ke dalam medium yang telah berisi mikroba lain, *Lactobacillus* mempunyai respon yang cukup baik dalam menghadapi stress lingkungan yang sedikit banyak mempengaruhi proses metabolismenya. Kemampuan *Lactobacillus* untuk mampu beradaptasi bahkan mampu juga menekan pertumbuhan *A. flavus*, kemungkinan disebabkan pada saat diinokulasikan ke dalam medium LTB, *A. flavus* baru berada pada fase pertumbuhan awal sehingga enzim-enzim yang terlibat pada proses pertumbuhan belum pada kondisi yang optimal, sebaliknya *Lactobacillus* berada pada fase eksponensial dimana enzim-enzim yang terlibat berada kondisi yang optimal. Residu glukosa yang tersedia di dalam medium kemudian secara cepat dimanfaatkan oleh *Lactobacillus* untuk menjalankan proses metabolisme.

Interaksi pertumbuhan antara ketiga spesies bakteri asam laktat dengan waktu inokulasi yang berlainan memberikan pola yang sama terhadap pertumbuhan *A. flavus* yaitu terjadi penekanan dalam kemampuan *A. flavus* dalam membentuk biomasa yang ditunjukkan dengan jumlah biomasa *A. flavus* yang lebih rendah dibandingkan kontrol. Jika dibuat suatu rangkuman dalam bentuk tabulasi banyaknya biomasa *A. flavus* yang dihasilkan pada ketiga perlakuan pada hari ke 15 maka hasilnya dapat diamati pada tabel.1. Berdasarkan tabel tersebut terlihat bahwa dari ketiga jenis bakteri asam laktat yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menekan kemampuan *A. flavus* dalam membentuk biomasa meskipun secara statistik tidak signifikan.

Tabel 1. Biomasa *A. flavus* pada ketiga perlakuan selama 15 hari dalam medium LTB pada temperatur ruang.

Reduksi berat kering *A. flavus* pada perlakuan dapat disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya adalah :

Faktor lingkungan yang berpengaruh dalam proses interaksi antara bakteri asam laktat dan *A. flavus* ini diantaranya adalah pH.

Perubahan pH merupakan suatu fungsi dari ketersediaan nutrisi dan metabolit yang dihasilkan selama pertumbuhan yang terdapat dalam medium. Bakteri asam laktat merupakan mikroba yang mempunyai kemampuan dalam menciptakan respon terhadap keasaman medium.

Reduksi berat kering *A. flavus* pada perlakuan dapat disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya adalah :

Faktor lingkungan yang berpengaruh dalam proses interaksi antara bakteri asam laktat dan *A. flavus* ini diantaranya adalah pH. Perubahan pH merupakan suatu fungsi dari ketersediaan nutrisi dan metabolit yang dihasilkan selama pertumbuhan yang terdapat dalam medium. Bakteri asam laktat merupakan mikroba yang mempunyai kemampuan dalam menciptakan respon terhadap keasaman medium.

Jenis Bakteri Asam Laktat	Biomasa <i>A. flavus</i> pada hari ke 15 (g)			
	A1	A2	A3	Rata-rata
<i>L. delbrueckii</i>	0.4986	0.5247	0.5400	0.5211**
<i>L. fermentum</i>	0.4196	0.5024	0.4196	0.4472**
<i>L. plantarum</i>	0.3989	0.3254	0.3254	0.3499**
Kontrol				0.6234

Keterangan :

A1: Perlakuan *A. flavus* ditumbuhkan terlebih dahulu pada medium LTB sebelum diinokulasi dengan bakteri asam laktat.

A2 : Perlakuan bakteri asam laktat ditumbuhkan terlebih dahulu pada medium LTB sebelum diinokulasi dengan *A. flavus*.

A.3 : Perlakuan inokulasi bakteri asam laktat dan *A. flavus* dilakukan secara bersamaan.

** : Berbeda sangat nyata pada selang kepercayaan 95 %.

Dinamika nilai pH mempengaruhi pertumbuhan kedua jenis mikroba tersebut. *A. flavus* sebenarnya mempunyai kisaran pH yang cukup rendah untuk pertumbuhannya sehingga sebenarnya rendahnya pH tidak berpengaruh secara signifikan, namun interaksinya dengan bakteri asam laktat lebih ditekankan karena bakteri asam laktat tersebut mempunyai kemampuan untuk bereaksi lebih cepat untuk menghadapi

stress asam sehingga aktivitas metabolismenya tidak terganggu. Sebaliknya bagi *A. flavus* membutuhkan energi yang relatif lebih banyak untuk merespon lingkungannya yang asam disamping untuk proses metabolismenya (Ray, 1992; Fardiaz, 1992). Hal ini mengakibatkan pertumbuhannya kurang optimal sehingga jumlah biomasa yang dihasilkan menjadi lebih rendah dibanding kontrol

Adanya komponen penghambat tertentu yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (Coallier dan Idzack, 1985). Betty (1999) menyatakan bahwa komponen penghambat yang dihasilkan oleh Bakteri asam laktat umumnya bersifat tahan panas. Mekanisme penghambatan komponen antimikroba ini terhadap mikroba target adalah dengan cara destabilisasi dari membran sitoplasma.

Bakteri asam laktat, baik yang bersifat homofermentatif maupun heterofermentatif memanfaatkan substrat yang tersedia pada lingkungannya dengan hasil akhir berupa energi dan asam-asam lemah seperti asam laktat, asam asetat serta CO₂. Keberadaan asam laktat sebagai produk metabolisme dapat bersifat sebagai salah satu faktor penghambat bagi pertumbuhan *A. flavus*. Jumlah asam laktat yang berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur berkisar antara 0.75 % - 1,5 % (Gourama dan Bullerman, 1995).

Mekanisme antimikroba asam laktat berdasarkan teori "chemiosmotic" dan pH homeostasis. Ketika asam laktat yang diproduksi disekresikan ke lingkungan, beberapa molekul terdissosiasi menjadi H⁺ dan anion, sementara yang lain tidak terdissosiasi. Salah satu faktor yang berperan terhadap terdissosiasi atau tidaknya suatu molekul adalah pH lingkungan dan pK (tetapan keseimbangan). Hal ini menyebabkan peningkatan proton transmembran yang pada akhirnya menyebabkan gradient proton. Perbedaan ini menyebabkan proton lebih cepat masuk ke dalam sel sehingga meningkatkan kebutuhan energi untuk mempertahankan pH alkali dalam sel. (Ray, 1992). Namun hal yang kontradiktif dinyatakan oleh Coallier & Idzack (1995) yang menyatakan bahwa asam laktat tidak bersifat sebagai penghambat dalam pertumbuhan *A. flavus* termasuk juga produksi aflatoksinya. Asam laktat ini justru sebagai faktor pendukung bagi

pertumbuhan *A. flavus* dan dapat bersifat sebagai kofaktor dalam pembentukan aflatoksin. Mekanisme ini didasarkan teori bahwa pada suatu substrat yang mempunyai konsentrasi asam laktat yang berlebih maka sel akan berusaha untuk mengoksidasi kembali asam laktat tersebut menjadi piruvat sebagai salah satu alternatif untuk mendapatkan energi dan mekanisme proteksi pada lingkungan yang ekstrim (Moat & Foster, 1995). Dari hasil penelitian dapat diamati bahwa terjadi penambahan biomasa pada 15 hari waktu inkubasi. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Coallier & Idzack (1995) bahwa kemungkinan asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat ini mampu dimanfaatkan oleh *A. flavus* untuk mendukung pertumbuhannya.

Interaksi antara bakteri asam laktat dan *A. flavus* terjadi dalam suatu sistem fermentasi statis dimana tidak dilakukan penambahan komponen substrat setelah inokulasi ke dalam medium tersebut selama proses fermentasi berlangsung. Hal ini mengakibatkan aktivitas metabolisme mikroba yang terlibat di dalamnya terjadi secara simultan. Berdasarkan kecepatan aktivitas metabolismenya bakteri mempunyai kecenderungan untuk menjalankan proses katabolisme lebih cepat dibandingkan jamur. Hal ini menyebabkan perubahan kondisi medium. Menurut Slater (1981), suatu komunitas terbentuk jika kondisi lingkungan mengakibatkan pertumbuhan lebih dari satu populasi mikroba dan pada waktu dan kondisi tertentu masing-masing anggota populasi saling berinteraksi. Jadi pada dasarnya proses interaksi itu tidak selalu terjadi selamanya namun hanya pada suatu periode tertentu namun akibat dari proses interaksi tersebut dapat berpengaruh terhadap mikroba yang terlibat di dalamnya.

PENGARUH BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP PENURUNAN KADAR AFLATOKSIN B₂.

Interaksi pertumbuhan antara ketiga jenis bakteri asam laktat dengan waktu inokulasi yang berlainan memberikan pola yang sama terhadap penurunan kemampuan *A. flavus* dalam memproduksi aflatoksin B₂. Jika dibuat suatu rangkuman dalam bentuk tabulasi, jumlah aflatoksin B₂ yang dihasilkan pada ketiga

perlakuan pada hari ke 15 maka hasilnya dapat diamati pada tabel 2. Tabel tersebut memperlihatkan bahwa dari ketiga jenis bakteri asam laktat yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai kemampuan yang berbeda dalam mereduksi kadar AFB₂ dalam medium uji.

Tabel 2. Rangkuman jumlah aflatoksin B₂ yang dihasilkan pada ketiga perlakuan pada hari ke 15 dalam medium LTB pada temperatur ruang.

Jenis Bakteri Asam Laktat	Kadar aflatoksin B ₂ pada hari ke 15 (ppm)			
	A1	A2	A3	Rata-rata
<i>L. delbrueckii</i>	0,652	0,831	0,435	0,6393**
<i>L. fermentum</i>	0,076	0,412	0,234	0,2408**
<i>L. plantarum</i>	0,752	0,138	0,122	0,3373**
Kontrol				1,0901

Keterangan :

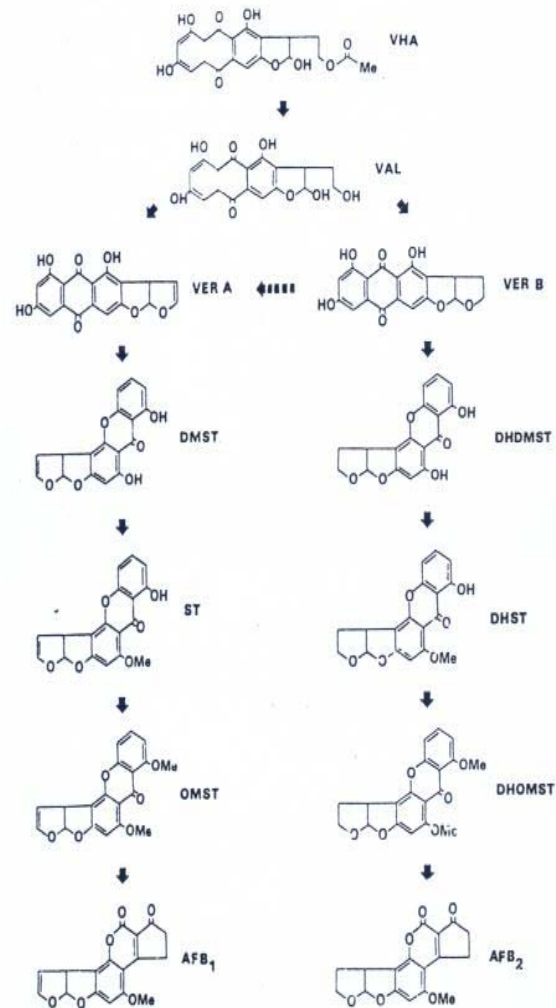
A1. : Perlakuan *A. flavus* ditumbuhkan terlebih dahulu pada medium LTB sebelum diinokulasi dengan bakteri asam laktat.

A2 : Perlakuan bakteri asam laktat ditumbuhkan terlebih dahulu pada medium LTB sebelum diinokulasi dengan *A. flavus*.

A.3 : Perlakuan inokulasi bakteri asam laktat dan *A. flavus* dilakukan secara bersamaan.

** : Berbeda sangat nyata pada selang kepercayaan 95 %.

Mekanisme sintesis aflatoksin B₂ dapat dijelaskan melalui gambar berikut Eaton, and Groopman. 1994 :



Setidaknya ada 20 reaksi enzimatik yang dibutuhkan oleh *A. flavus* untuk memproduksi AFB₂ (Chang *et al*, 2007.; Chiou *et al*, 2002). Gen yang bertanggung jawab terhadap produksi Aflatoxin B₂ disebut sebagai gen Afl J dan gen Afl B (Meyers *et al*, 1998). Kegagalan ekspresi gen dapat terjadi jika gen penyandi aflatoksin B₂ rusak atau dalam waktu pengamatan 15 hari tersebut , kecepatan pembentukan Aflatoxin B₂ menjadi berkurang akibat cekaman pada substrat pertumbuhannya akibat akumulasi produk metabolit dari bakteri asam laktat (Chiou *et al*, 2002).

Metabolit yang bersifat asam baik yang dihasilkan oleh Bakteri asam laktat maupun *A. flavus* selama fase logaritmik akhir bersifat akumulatif didalam medium. Kondisi ini

membuat pertumbuhan kedua jenis mikroba menjadi kurang optimal. Menurut Haskard *et al* (2001) asam yang terlalu tinggi akan memacu terjadinya lubang pada dinding sel. Walaupun lapisan peptidoglikan pada bakteri gram positif ini cukup tebal, namun peristiwa pemutusan ikatan oleh asam ini akan menurunkan ketebalan, melonggarkan ikatan silang antar komponen dan pada akhirnya akan memperbesar ukuran lubang. Kondisi yang terjadi pada dinding sel memungkinkan AFB₂ untuk terikat pada dinding sel dan plasma membran dengan suatu mekanisme pengikatan tertentu (Haskard *et al*, 2001).

Interaksi mikroba merupakan suatu sistem yang dinamis, yaitu terjadi perubahan yang terus menerus pada populasi mikroba yang terlibat di dalamnya. Adanya kompetisi untuk mendapatkan nutrisi yang terbatas, kondisi lingkungan yang kurang mendukung, akumulasi metabolit yang kemungkinan beracun akan menginduksi enzim-enzim tertentu untuk bereaksi agar proses metabolisme dapat terus berlangsung. Bakteri asam laktat kemungkinan mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar Aflatoksin B₂ yang terbentuk dengan suatu mekanisme enzimatik tertentu, walaupun untuk membuktikan hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Rendahnya kadar Aflatoksin B₂ dibanding kontrol kemungkinan disebabkan karena *A. flavus* tidak mampu memproduksi Aflatoksin B₂ secara optimal. Pada interaksi ini biomasa *A. flavus* yang terbentuk pada perlakuan secara kuantitas lebih rendah dibandingkan kontrol, sehingga hal ini akan berkorelasi langsung terhadap kemampuan *A. flavus* dalam memproduksi Aflatoksin B₂

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M., 1997. *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*. Andi Offset. Yogyakarta. P. 9 -25
- Bata, A & Lasztity, R. 1999. *Detoxification of Mycotoxin Contaminated Food and Feed by microorganism*. Trends in Food Science and Technology 10 : 223 - 228.
- Chiou, C.H., Miller, M., Wilson D.L, Trail, F dan Linz, J. E. 2002. *Chromosomal Location Plays a role in regulation of Aflatoxin gene expression in Aspergillus parasiticus*. Applied and Environmental Microbiology (abstrak) Vol 68 (1): 306 -315
- Chang, Jeffery R. Wilkinson, Bruce W. Horn, Jiujiang Yu, Deepak Bhatnagar and Thomas E. Cleveland. 2007. *Genes differentially expressed by Aspergillus flavus strains after loss of aflatoxin production by serial transfers*. Journal [Applied Microbiology and Biotechnology](#). Vol 77(4)
- Coallier., and E. S. Idziak. 1985. *Interaction between Streptococcus lactis and Aspergillus flavus on Production of Aflatoxin*. *Appl. Environ. Microbiol* 49 : 163 - 167
- Eaton, D. L. , and Groopman J. D. 1994. *The Toxicology of Aflatoxins*. Academic Press, Inc, California. p. 309 -312
- Fardiaz, S. 1987. *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor - Lembaga sumber Daya Informasi- IPB, Bogor. p.11,15 - 33.
- _____. 1992. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut*. PAU Pangan dan gizi, Bogor. p. 139 - 141, 175 - 182.
- _____. 1996. *Mycotoxin Contamination in Grains - a Review of research in Indonesia*. In *Mycotoxin Contamination in Grains*. Highley, E, & Johnson, G. I. Australian Centre for International Agricultural research, Canberra. P. 112 - 119
- Grinberg, N. 1990. *Modern Thin Layer Chromatography*. Marcell Dekker, Inc. New York. p.1- 15, p. 249 - 281.
- Haskard, C. A., Nezami, H., Kankanpaa, P. E. Salminen, S & Ahokas, J. T. 2001. *Surface binding of Aflatoxin B₁ by Lactic Acid Bacteria*. Applied and Environmental microbiology Vol 67 (7) : 3086 - 3091.
- Landecker, E. M. 1996. *Fundamentals of the Fungi*, fourth edition. Prentice Hall, New Jersey. p. 214 - 220, 279 - 28

- Lehninger, 1994. *Dasar- Dasar Biokimia*. Jilid 2. Terjemahan oleh Maggy thenawidjaya. Erlangga, Jakarta.p. 73 -90
- Moat, A. G & Foster, J. W., 1995. *Microbial Physiology*. Willey- Liss, Inc. New York.
- Makfoeld , D. 1993. Mikotoksin Pangan. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Mehan , V. K., Mc Donald, D, Haravu, L. J. & Jayanthi, S. 1991. *The Groundnut aflatoxin Problem Review and Literature Database*. International crops research Institute for the semi Arid Tropics, India. p. 9, 17- 19, 58 -63
- Meyers, D.M., Obrian, G., Du, W. L., Bhatnagar, D dan Payne, G.A. 1998. *Characterization of aflJ, a Gene Required for Conversion of pathway Intermediates to Aflatoxin*. Applied and enviromental Microbiology Vol 64 (10): 3713 - 3717.
- Nezami, H, Mykkenen, H., Kankaanpaa, P. E. Salminen, S & Ahokas, J.T. 2000. *Ability of Lactobacillus and Propionibacterium Strains to Remove aflatoxin B₁ from the Chicken Duodenum*. Journal of Food Protection vol 63 (4) : 549 - 552 .
- Nezami, H. S. & Ahokas, J.T. 1997. *Lactic Acid Bacteria : An Approach for detoxification of Aflatoxins*. In. *Lactic Acid Bacteria : Microbiology and Functional Aspects*. Ed. Salminen, S & Von Wright, A. Marcel Dekker, Inc, New York. p. 359 -366.
- Oatley, J. T., M. D. Rarick, G. E. Ji, and J. E. Linz. 2000. *Binding of Aflatoxin B₁ to Bifido - bacteria in vitro*. J. Food Prot. 63:1133– 1136.
- Ray, 1996. *Lactic Acid Bacteria : Current Advances in Metabolism, Genetic , and Application*, Springer - Verlag, Germany
- Slater, J.H. 1981. *Mixed Culture and Microbial Communities*. In : *Mixed Culture Fermentation*. Ed. Bushel, M. E. & Slater, J. H. Academic Press, London. p. 1-15.