

**PEMANFAATAN LIMBAH CUCIAN *KEFIR GRAIN* SEBAGAI AGENSIA
BIOKONTROL UNTUK MENEKAN PERTUMBUHAN *Aspergillus flavus*
PADA JAGUNG (*Zea mays*)**

Pusporini^{1}, Tri Laras Wigati², Haeruman Alamsyah, Mia Rahmawati, dan Titin Widyastuti*

Fakultas Peternakan

Universitas Jenderal Soedirman

Purwokerto 53123, Indonesia

Email: 1. pusporini95@gmail.com, 2. tlaraswigati@gmail.com

**Corresponding author: pusporini95@gmail.com*

Abstrak

Penurunan kualitas bahan pakan akibat kapang (jamur) dapat menurunkan produktivitas ternak dan melemahnya sistem kekebalan tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mencari konsentrasi limbah cucian *kefir grain* sebagai agensia biokontrol dalam upaya menekan pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* pada jagung. Materi penelitian yang digunakan jagung Madura pipilan yang sudah terkontaminasi *Aspergillus flavus* dan limbah cucian *kefir grain*. Metode penelitian yang digunakan ialah metode eksperimen. Rancangan penelitian yang digunakan ialah Rancangan Acak Kelompok pola faktorial dengan faktor pertama berupa konsentrasi limbah cucian kefir (0%, 25%, 50%, 75%, dan 100%) dan faktor kedua ialah lama penyimpanan (0, 1, 2, 3, dan 4 minggu). Variabel penelitian meliputi kadar asam lemak bebas (FFA) dan kadar aflatoksin jagung. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi limbah cucian kefir grain dan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar asam lemak bebas. Hasil analisis kadar aflatoksin menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi 100% dan lama penyimpanan 1 minggu mampu menurunkan produksi aflatoksin sebesar 3,9%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa limbah cucian *kefir grain* konsentrasi 100% berpotensi menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus flavus* pada jagung dengan daya simpan selama 1 minggu.

Kata kunci: *Aspergillus flavus*, air cucian *kefir grain*, FFA, aflatoksin

Abstract

The quality decreasing of feedstuff due to mold (fungi) can affects livestock productivity and the immune system. This study aims to find the concentration of kefir grain washing waste as a biocontrol agent of *Aspergillus flavus* in maize. This research used corn grains that was contaminated with *Aspergillus flavus* and kefir grain washing waste. The experiment was conducted in a factorial randomized block design. The first factor was the concentration of kefir grain washing waste (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) and the second factor was the storage duration (0, 1, 2, 3, 4 weeks). Variables observed were levels of free fatty acids (FFA) and levels of aflatoxins. Results revealed that the combination of kefir grain washing waste concentration and storage duration had no significant effect ($P > 0.05$) on free fatty acid levels. The results showed that treatment with concentration 100% and 1 week storage duration was able to reduce aflatoxin production by 3.9%. Based on this research, it can be concluded that the 100% concentration of kefir grain washing waste has the potential to inhibit the growth of *Aspergillus flavus* in maize for 1 week.

Kata kunci: *Aspergillus flavus*, air cucian *kefir grain*, FFA, aflatoksin

1. Latar Belakang

Jagung merupakan salah satu bahan pakan ternak yang proporsinya cukup besar dalam ransum, dimana dalam pakan dapat mencapai 50%. Cemaran kapang jenis *Aspergillus flavus* merupakan kasus yang sering dijumpai akibat manajemen penyimpanan jagung yang kurang memadai. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan penurunan kualitas bahan pakan antara lain suhu, kelembapan penyimpanan, kadar air, invasi serangga, serta pemrosesan (Ahmad, 2009)

Sejumlah kapang menghasilkan racun atau biasa dikenal dengan istilah mikotoksin sebagai bentuk sisa metabolismenya. Penumpukan mikotoksin dalam

organ tubuh secara berkelanjutan dapat menyebabkan mikotoksikosis. Salah satu jenis mikotoksin yang paling berbahaya adalah aflatoksin jenis B1 yang dihasilkan oleh *Aspergillus flavus*. Kontaminasi aflatoksin dalam pakan itik alabio diketahui berpotensi mencemari produk daging dan telur hingga 100% meskipun sudah dimetabolisme di organ hati (Sumantri, dkk., 2017). Akumulasi konsumsi produk yang tercemar aflatoksin diketahui mampu meningkatkan resiko kanker, hepatitis B, penurunan sistem imun, dan resiko stunting pada anak-anak (Wu, 2015). Sedangkan efek aflatoksin B1 pada ternak unggas dapat menyebabkan penurunan pertumbuhan, konversi pakan, produksi telur, serta penurunan fungsi sistem imun yang berkaitan erat dengan peningkatan biaya produksi (Monson *et al.*, 2015).

Resiko pencemaran *Aspergillus flavus* pada bahan pakan, khususnya jagung, dapat diatasi dengan mekanisme fisik, kimiawi dan biologi. Pemilihan metode biologi dinilai lebih aman bagi ternak maupun bagi manusia sebagai konsumen akhir. Penggunaan khamir *S. cerevisiae* ATCC 9376 terbukti mampu menurunkan pertumbuhan *Aspergillus flavus* sebesar 47% pada jagung dan pada kedelai sebesar 45% (Monson *et al.*, 2015). Pemberian susu fermentasi dengan kandungan *Lactobacillus rhamnosus* GG dan *Lactobacillus casei* strain Shirota pada tikus yang diinjeksi aflatoksin mampu meningkatkan fungsi proteksi organ hati dengan meningkatkan aktivitas antioksidan seperti glutathione peroksidase, superoksida dismutase, catalase dan glutathione-S-transferase sehingga mencegah kerusakan organ hati (Kumar, *et al.*, 2012).

Mikroba berupa khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus sp.* juga terdapat dalam kefir grain yang digunakan dalam pembuatan minuman susu fermentasi. Perawatan kefir grain dilakukan dengan mencuci menggunakan air matang setelah kefir grain digunakan untuk membuat susu fermentasi. Di dalam limbah cucian kefir grain tersebut masih mengandung mikroorganisme yang terdapat pula dalam minuman kefir, antara lain bakteri asam laktat dan yeast yaitu *Streptococcus*, *Lactobacillus sp.*, dan jenis khamir yang memfermentasi laktosa (Safitri dan Swarstuti, 2013).

Penelitian ini mencoba untuk memanfaatkan potensi mikroorganisme dalam air cucian kefir grain untuk menekan pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada jagung pipilan selama masa penyimpanan. Kefir banyak dimanfaatkan sebagai probiotik penghasil senyawa antimikroba seperti bakteriosin, hidrogen peroksida dan berbagai senyawa antibiotik yang menekan pertumbuhan bakteri. Kemampuan inilah yang diduga mampu menekan pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan produksi aflatoksin pada jagung. Dengan demikian dalam jangka panjang dapat diperoleh produk peternakan yang aman dan bebas kontaminasi jamur maupun residu senyawa kimia bagi konsumen.

2. Metode

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok pola faktorial. Faktor pertama ialah dosis air cucian kefir grain (0%, 25%, 50%, 75% dan 100%) dan faktor kedua yakni waktu penyimpanan jagung (1, 2, 3, 4, 5 minggu). Dengan demikian, penelitian terdiri dari 25 kombinasi perlakuan. Perlakuan yang berpengaruh nyata akan diuji lanjut dengan BNT.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Bahan Makanan Ternak Fakultas Peternakan dan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA, Universitas Jenderal Soedirman mulai tanggal 28 Maret sampai dengan 15 Juli 2017. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah, jagung Madura pipilan yang sudah terinfeksi aflatoksin dan limbah air cucian kefir grain 1 kali bilas. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah seperangkat alat analisis asam laktat, seperangkat alat analisis asam lemak bebas (FFA) dan seperangkat alat analisis kadar aflatoksin.

Tahap Persiapan

Penyemprotan air cucian kefir pada jagung terinfeksi *A. flavus*. Persiapan meliputi persiapan alat dan bahan, serta pra penelitian yang meliputi pelatihan analisis asam lemak bebas (FFA) dan analisis asam laktat.

Tahap Pelaksanaan

Jagung sebanyak 300 gram disemprot dengan limbah air cucian kefir grain sebanyak 30 ml sampai merata. Masukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan di dalam keranjang dengan dilakukan pengamatan suhu dan kelembaban menggunakan thermo-hygrometer.

Tahap Pengambilan Data

a. Analisis Kadar Asam Lemak Bebas
Kadar asam lemak bebas dengan rumus:

$$\%FFA = \frac{ml\ KOH \times N\ KOH \times BM}{bobot\ contoh\ (gram) \times 10} \times 100\%$$

b. Analisis Kadar Aflatoksin
Kadar aflatoksin dihitung dengan rumus:

$$C = \frac{S \times Y \times V \times f \ \mu g/kg}{W \times Z}$$

Keterangan:

C : kandungan aflatoksin dalam contoh ($\mu g/kg$)

S : standar yang ditotolkan yang intensitasnya sama dengan intensitas contoh (μl)

Y : Konsentrasi masing-masing standar ($\mu g/ml$)

W : Bobot contoh (gram)

Z : Jumlah ekstrak contoh yang ditotolkan yang memberikan intensitas yang sama dengan S

V : Jumlah pelarut (kloroform) yang dipakai untuk melarutkan ekstrak (μl)

F : faktor pengenceran

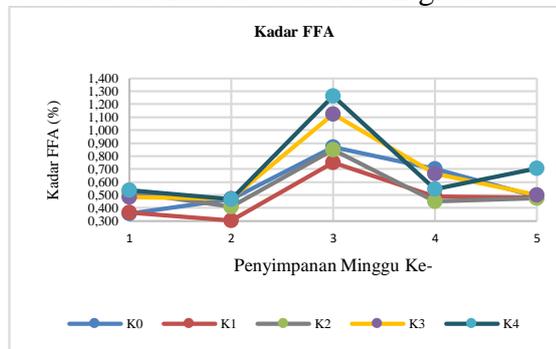
3. Hasil dan Pembahasan

Kadar Asam Lemak Bebas

Hasil uji asam laktat pada air limbah cucian kefir grain adalah 1,0527% yang menunjukkan adanya aktivitas Bakteri asam laktat (BAL) yang berpotensi menekan pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada jagung karena berdasarkan SNI 01-2891-1992, kadar asam laktat susu fermentasi berkisar antara 0,5 – 2,0%. Penelitian Damayanti, et al. (2015) menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang

diisolasi dari silase pelepah sawit memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kapang *A.flavus* secara kualitatif maupun secara kuantitatif yang ditandai dengan pembentukan zona bening di sekitar koloni. Hasil serupa juga diperoleh dari penelitian Febriana, et al. (2021) yang menggunakan isolat bakteri asam laktat dari produk fermentasi singkong.

Pengukuran kadar lemak bebas pada jagung yang disimpan bertujuan untuk mengetahui tingkat kerusakan komponen lemak kasar pada jagung akibat invasi jamur *Aspergillus flavus* pada kontrol dibandingkan jagung yang telah disemprot dengan air limbah cucian kefir grain. Invasi jamur dapat menyebabkan terjadinya oksidasi dan hidrolisis pada lemak yang terkandung di dalam jagung sehingga meningkatkan kadar asam lemak bebas (FFA) (Husnah, dkk. 2020). Hasil pengukuran kadar asam lemak bebas jagung pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 1, berkisar antara 0,263 % - 1,262 %. Kadar asam lemak bebas terendah diperoleh dari perlakuan konsentrasi 0% dengan lama penyimpanan 1 minggu yakni sebesar $0,263 \pm 0,167\%$, dan kadar asam lemak bebas tertinggi diperoleh dari perlakuan konsentrasi 100% dengan lama penyimpanan 3 minggu dengan kadar FFA senilai $1,262 \pm 0,112\%$. Seluruh perlakuan menunjukkan adanya kecenderungan penurunan kadar asam lemak bebas setelah minggu ke-3. Hal ini diduga karena adanya aktivitas penghambatan aktivitas *Aspergillus flavus* oleh senyawa asam laktat dalam air limbah cucian kefir grain.



Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Penyimpanan terhadap Kadar FFA (Keterangan: K0 = konsentrasi 0%, K1= 25%, K2= 50%, K3= 75%, K4= 100%)

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar asam lemak bebas ($P > 0,05$). Namun, lama penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar asam lemak bebas jagung yang disemprot dengan limbah air cucian kefir grain dengan kecenderungan meningkatkan kadar asam lemak bebas hal ini disebabkan karena air limbah cucian kefir grain bersifat asam. Kadar asam lemak yang tinggi menunjukkan bahwa penggunaan air limbah cucian kefir tidak cukup efektif dalam menghambat aktivitas oksidasi asam lemak dalam jagung. Dapat dikatakan bahwa proses oksidasi asam lemak dalam jagung masih terus terjadi selama masa penyimpanan. Kurangnya efektifitas air limbah cucian kefir dapat disebabkan oleh rendahnya kadar asam laktat yang terkandung di dalamnya sehingga tidak cukup menghentikan aktivitas *Aspergillus flavus*.

Asam lemak bersama-sama dengan gliserol merupakan penyusun utama minyak nabati maupun lemak yang terkandung di dalam tubuh makhluk hidup, termasuk tanaman. Lemak dapat berubah menjadi asam lemak bebas dan gliserol

karena adanya aktivitas oksidasi dan hidrolisis oleh enzim lipase. Proses tersebut dapat terjadi dalam suhu ruang dan juga akibat pengaruh pengolahan menggunakan suhu tinggi. Proses hidrolisis maupun oksidasi yang terjadi pada minyak jagung juga dipengaruhi oleh faktor eksternal yaitu suhu, kelembaban dan lama penyimpanan (Sopianti, dkk., 2017). Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap kenaikan kadar asam lemak bebas jagung selama penyimpanan. Hal tersebut diduga karena selama penyimpanan masih terjadi aktivitas enzim lipase yang menyebabkan terjadinya pemecahan lemak menjadi asam lemak dan gliserol.

Peningkatan kadar FFA pada jagung selama penyimpanan diduga disebabkan oleh aktivitas enzim lipase yang terjadi sejak jagung dipanen. Selain itu, aktivitas perlakuan penyemprotan air limbah cucian kefir grain menyebabkan kadar air masih tinggi dan menyebabkan aktivitas air. Peningkatan aktivitas air berbanding lurus dengan aktivitas enzimatik sehingga peningkatan kadar FFA akibat hidrolisis lemak terus terjadi selama pengeringan jagung belum mencapai kadar air maksimal yang disyaratkan. Kadar air maksimal bijian yang akan disimpan dalam waktu lama maksimal sebesar 14% untuk menghindari tumbuhnya jamur pada bahan pakan. Kadar air jagung pipilan yang tidak diberikan perlakuan selama penyimpanan 4 minggu adalah 11,7 % sedangkan jagung dengan diberikan perlakuan dan disimpan selama 4 minggu 10,38%, angka tersebut masih lebih rendah dibandingkan ambang toleransi syarat kadar air maksimum untuk penyimpanan jagung. Penurunan pH yang terjadi akibat akumulasi asam laktat dari air limbah cucian kefir juga dinilai tidak cukup efektif menurunkan pH jagung selama penyimpanan. Kondisi tersebut diduga masih dalam dalam toleransi lingkungan bagi enzim lipase untuk bekerja. Aktivitas lipolitik enzim lipase yang dihasilkan oleh jamur *Aspergillus flavus* berkisar pada pH 6,3 – 7,7; dengan temperature lingkungan berkisar antara 28°C – 42°C (Colla, et al., 2015). Sementara lipase dari jenis jamur lain, yakni *Aspergillus niger* menunjukkan aktivitas pada rentang suhu antara 20°C – 60°C (Salmon, et al., 2020).

Kadar Aflatoksin

Pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* sangat dipengaruhi oleh kadar air dalam bahan pakan. Penurunan kadar air pada penelitian ini diharapkan akan menekan pertumbuhan aflatoksin pada jagung, karena *Aspergillus flavus* tumbuh dan berkembang pada kondisi kelembapan relatif sekitar 80%. Selain itu, kondisi aerasi tempat penyimpanan yang tidak cukup baik, kadar oksigen dan CO₂ di udara sekitar, dan juga suhu lingkungan sekitar 25°C merupakan kondisi ideal bagi jamur *Aspergillus flavus* untuk tumbuh dan menghasilkan aflatoksin (Purnamasari, dkk., 2016).

Hasil analisis kadar aflatoksin pada jagung yang disemprot air limbah cucian kefir grain dan telah dilakukan penyimpanan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Kadar Aflatoksin

Kode	B1(ppb)	B2(ppb)	G1(ppb)	G2(ppb)	Total(ppb)
K0L1	3,75	4,17	3,55	6,86	18,33
K0L4	5,80	8,88	6,70	15,40	36,78
K1L1	4,04	3,85	5,75	6,90	20,54
K1L4	8,80	10,70	10,05	19,45	49,00
K4L1	3,55	3,15	6,80	4,11	17,61
K4L4	15,66	9,90	6,75	10,25	42,56

Keterangan :

K0 = konsentrasi larutan 0%, K1= 25%, K4= 100% cucian kefir grain

L1 = lama penyimpanan 1 minggu, L4 = lama penyimpanan 4 minggu

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa penyimpanan jagung selama 1 minggu dengan penyemprotan limbah cucian kefir grain 100% (K4L1) memberikan hasil yang optimum untuk menekan perkembangan aflatoksin. Sedangkan kadar aflatoksin tertinggi terdapat pada jagung pada perlakuan penyemprotan konsentrasi 25% cucian kefir grain yang disimpan selama 1 minggu (K1L4). pH kefir umumnya berkisar antara 3,5 – 4,4 yang dipengaruhi oleh dosis starter yang digunakan. Semakin banyak starter yang digunakan dan dilakukan selama masa penyimpanan optimum, maka akan semakin rendah pH kefir yang dihasilkan (Lengkey, *et al.*, 2013). Sementara penelitian lain dengan menggunakan starter kefir sebanyak 5% menghasilkan pH kefir sekitar 4,19 – 4,50 (Yildiz-Akgul, *et al.*, 2018). Kefir bersifat heterofermentatif, dimana terdapat peran bakteri asam laktat dan yeast dalam memfermentasi laktosa susu. Selain itu, produk metabolit mikroba kefir juga berupa CO₂, alkohol dan komponen volatil (Azizkhani, *et al.*, 2021).

Pada perlakuan K4L1, dimana pemberian konsentrasi air cucian kefir 100%, terbukti mampu menekan pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dan produksi aflatoksin dibandingkan pada kombinasi perlakuan yang lain. Hal ini diduga karena aktivitas bakteri asam laktat pada limbah air cucian kefir grain masih bekerja secara optimal dan menghasilkan asam laktat sehingga menyebabkan pH selama penyimpanan turun. pH larutan cucian kefir grain hampir mendekati pH kefir yaitu 4. Daya menghambat ini diduga disebabkan adanya kandungan asam laktat dan asam asetat yang masih ada dalam air limbah cucian kefir grain. Senyawa asam laktat dan asam asetat yang dihasilkan dari fermentasi kefir memiliki sifat antifungal yang telah teruji dapat menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* AFUNL5 pada produk olahan jagung secara *in vitro* (Gamba, *et al.*, 2016a). Penelitian lain juga membuktikan bahwa whey hasil fermentasi kefir dengan pH < 4 memiliki sifat antifungal yang efektif menghambat germinasi jamur *Fusarium graminearum* dan menghambat produksi zearalenone (ZEA) yang merupakan mikotoksin estrogenik (Gamba, *et al.*, 2016b). Pengujian sifat antifungal kefir yang terbuat dari susu sapi, unta, domba, dan kambing menunjukkan hasil yang beragam. Kefir susu domba memiliki kemampuan terbaik dalam menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*, *Fusarium sp.*, dan bada bakteri *Penicillium sp.* dibandingkan kefir dari bangsa ternak lain (Azizkhani, *et al.*, 2021).

Efektivitas senyawa asam laktat dan asam asetat hasil fermentasi pada produk maupun whey kefir cukup ditentukan oleh konsentrasi kedua senyawa tersebut, yang pada akhirnya juga berpengaruh terhadap pH akhir. Hal inilah yang terjadi pada perlakuan konsentrasi 25% yang tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan *A. flavus* seperti yang terjadi pada jagung yang tidak diberi perlakuan air cucian kefir. Hasil penelitian Gamba, *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa kefir yang diperoleh dari inkubasi pada suhu 30°C dan menghasilkan pH 3,3 memiliki sifat antifungal tertinggi dibandingkan pada kefir yang memiliki konsentrasi lebih rendah dan memiliki pH 4,5 yang justru meningkatkan

pertumbuhan *A. flavus*. Penyemprotan air limbah cucian kefir pada konsentrasi kurang dari 100% tidak cukup memberikan suasana lingkungan asam untuk mencegah produksi aflatoksin oleh *Aspergillus flavus*. Lingkungan yang sesuai untuk jamur ini memproduksi aflatoksin berkisar pada pH medium 5,5-7,0, suhu 5 – 45°C, dengan kelembapan relatif 80% (purnamasari, dkk., 2016).

Secara umum kadar aflatoksin maksimal dalam penelitian ini masih kurang dari standar SNI yaitu 50 ppm. Artinya penyemprotan jagung dengan air limbah cucian kefir masih dapat diterapkan pada penyimpanan jagung id tingkat petani. Selain itu, perlu juga didukung dengan teknik pengeringan yang optimal untuk mempertahankan kadar air kurang dari 14%. Pertumbuhan *Aspergillus flavus* sebisa mungkin harus ditekan karena pada beberapa kasus efek toksik aflatoksin terjadi secara akumulatif. Penelitian pada sapi perah yang terpapar aflatoksin 120ppb selama beberapa bulan mengalami penurunan produksi susu hingga 28% dan efisiensi reproduksi menurun 2%, juga resiko melahirkan pedet yang tidak sehat dan bobot kecil, diare, mastitis akut, prolapses, serta kerontokan rambut (Atherstone, *et al.*, 2016). Efek toksik aflatoksin juga menyebabkan perkembangan abnormal pada janin di periode pre natal atau sebelum menetas. Hal ini disebabkan oleh efek aflatoksin jenis B₁ menurunkan sel limfoid, menekan limfoblastogenesis, menurunkan fungsi makrofag, terutama sifat fagosit (Coppock, *et al.*, 2018).

4. Kesimpulan

Limbah cucian kefir grain memiliki potensi untuk menurunkan pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* pada jagung. Kadar asam lemak bebas meningkat karena air limbah cucian kefir grain bersifat asam. Kadar aflatoksin menurun sebesar 3,9% pada penggunaan air limbah cucian kefir grain 100% dengan lama penyimpanan 1 minggu. Berdasarkan hasil penelitian perlu dikaji lebih lanjut penerapan air cucian kefir grain pada jagung yang tidak terinfeksi oleh *Aspergillus flavus* sehingga dapat digunakan sebagai media pengawetan jagung pada saat disimpan.

5. Acknowledgement

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan bantuan berupa dana hibah untuk penelitian kami pada Program Kreativitas Mahasiswa Bidang Penelitian Eksakta yang dibimbing oleh Ibu Titin Widiyastuti, S.Pt. M. Si serta seluruh pihak yang telah membantu proses penelitian kami.

Daftar Rujukan

- Ahmad R. Z., 2009. Cemaran kapang pada pakan dan pengendaliannya. *J. Litbang Pertan.*, vol. 28, no. 1, pp. 15–22,.
- Atherstone C., D. Grace, J. F. Lindahl, E. K. Kang'ethe, and F. Nelson, 2016 . Assessing the impact of aflatoxin consumption on animal health and productivity. *African J. Food, Agric. Nutr. Dev.*, vol. 16, no. 3, pp. 10949–10966.
- Azizkhani M., P. E. J. Saris, and M. Baniyasi. 2021. An *in-vitro* assessment of

antifungal and antibacterial activity of cow, camel, ewe, and goat milk kefir and probiotic yogurt. *J. Food Meas. Charact.*, vol. 15, no. 1, pp. 406–415.

Broto W., 2018. Status Cemaran Dan Upaya Pengendalian Aflatoksin Pada Komoditas Serealia Dan Aneka Kacang. *J. Penelit. dan Pengemb. Pertan.*, vol. 37, no. 2, p. 81.

Colla L. M., A. M. M. Ficanha, J. Rizzardi, T. E. Bertolin, C. O. Reinehr, and J. A. V. Costa. 2015. Production and characterization of lipases by two new isolates of *Aspergillus* through solid-state and submerged fermentation. *Biomed Res. Int.*, vol. 2015.

Coppock R. W., R. G. Christian, and B. J. Jacobsen, 2018. *Aflatoxins*. Elsevier Inc.

Damayanti E., A. E. Suryani, A. Sofyan, M. F. Karimy, and H. Julendra. 2015. Seleksi Bakteri Asam Laktat Dengan Aktivitas Anti Jamur Yang Diisolasi Dari Silase Dan Saluran Cerna Ternak (Isolation of Lactic Acid Bacteria for Antifungal Activity Isolated from Silage and Animal Digestives Tract). *J. Agritech*, vol. 35, no. 02, p. 164.

Febriana M. H., E. Purwijantiningsih, and P. Yuda. 2021. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antimikrobia Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Singkong (Gatot) terhadap *Bacillus cereus* dan *Aspergillus flavus*. *Biota J. Ilm. Ilmu-Ilmu Hayati*, vol. 6, no. 1, p. 15.

Gamba R. R. *et al.*, 2016. Antifungal effect of kefir fermented milk and shelf life improvement of corn arepas. *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 235, pp. 85–92.

Gamba R. R., G. De Antoni, and A. L. Peláez. 2016. Whey permeate fermented with kefir grains shows antifungal effect against *Fusarium graminearum*. *J. Dairy Res.*, vol. 83, no. 2, pp. 249–255
Husnah, Nurlela, and A. Wahyudi. 2020. Kualitas Minyak Goreng Sebelum Dan Sesudah Dipakai Ditinjau Dari Kandungan Asam Lemak Bebas Dan Perubahan Warna. *J. Univ. PGRI Palembang*, vol. 5, no. 2, pp. 96–107

Kumar M. *et al.*, 2012. Anticarcinogenic effect of probiotic fermented milk and chlorophyllin on aflatoxin-B1-induced liver carcinogenesis in rats. *Br. J. Nutr.*, vol. 107, no. 7, pp. 1006–1016.

Lengkey HA, Siwi JA, and Balia RL. 2013. The effect of various starter dosages on Kefir quality. *Lucr. Științifice-Universitatea Științe Agric. și Med. Vet. Ser. Zooteh.*, vol. 59, pp. 113–116.

Monson M. S., R. A. Coulombe, and K. M. Reed, 2015. Aflatoxicosis: Lessons from Toxicity and Responses to Aflatoxin B1 in Poultry, *Agriculture*, vol. 5, no. 3, pp. 742–777.

- Purnamasari L., A. Agus, and C. T. Noviandi. 2016. Kajian Produksi Aflatoksin B1 Kasar dari Isolat Kapang *Aspergillus Flavus* Lokal pada Media Jagung dan Jagung+Kacang Tanah. *Bul. Peternak.*, vol. 40, no. 2, pp. 133–137.
- Safitri M. F. and A. Swarstuti. 2013. kualitas kefir berdasarkan konsentrasi kefir grain. *J. Apl. Teknol. Pangan*, vol. 2, no. 2, pp. 87–92.
- Salmon A. M., M. E. S. Ledo, and M. Nitsae. 2020. Karakterisasi Substrat Dan Suhu Ekstrak Kasar Lipase *Aspergillus niger* M1407. *J. Saintek Lahan Kering*, vol. 3, no. 1, pp. 13–15.
- Sopianti D. S., H. Herlina, and H. T. Saputra. 2017. Penetapan Kadar Asam Lemak Bebas Pada Minyak Goreng. *J. Katalisator*, vol. 2, no. 2, p. 100.
- Sumantri I., A. Agus, B. Irawan, H. Habibah, N. Faizah, and K. J. Wulandari, 2017. Cemaran Aflatoksin Dalam Pakan Dan Produk Itik Alabio (*Anas platyrinchos* borneo) Di Kalimantan Selatan, *Bul. Peternak.*, vol. 41, no. 2, pp. 163–168,.
- Yıldız-Akgül F., A. Yetişemiyen, E. Şenel, and Z. Yıldırım. 2018. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir produced by secondary fermentation,” *Mljekarstvo*, vol. 68, no. 3, pp. 201–213.
- Wu F., 2015. Global impacts of aflatoxin in maize: Trade and human health,. *World Mycotoxin J.*, vol. 8, no. 2, pp. 137–142,.