

OZON UNTUK MENGATASI CEMARAN *ASPERGILLUS FLAVUS* DAN AFLATOKSIN PADA BIJI-BIJIAN: PELUANG DAN TANTANGAN IMPLEMENTASI

Ozone to Overcome Aspergillus flavus and Aflatoxin in Grains: Opportunities and Challenges of Implementation

Nikmatul Hidayah¹, Christina Winarti¹ dan Usman Ahmad²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
Jalan Tentara Pelajar No. 12, Cimanggu, Bogor 16122
Telp. (0251) 8321762, Faks. (0251) 8350920

²Jurusan Teknologi Pascapanen, Departemen Teknik Mesin dan Biosistem, IPB
Kampus IPB Dramaga, Bogor 16002
Telp. (0251) 8623026, Faks. (0251) 8623026
Email: nikmahidayah@gmail.com

Diterima: 24 November 2021; Revisi: 17 Desember 2021; Disetujui: 27 Desember 2021

ABSTRAK

Ozon dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pengendalian cendawan dan aflatoksin pada biji-bijian yang lebih ramah lingkungan karena tidak meninggalkan residu yang berbahaya bagi manusia, hewan, maupun lingkungan. Penggunaan ozon cukup efektif mengurangi kontaminasi cendawan dan aflatoksin pada biji-bijian seperti barley, biji gandum, jagung, dan beras. Di Indonesia, ozon digunakan secara terbatas untuk proses pencucian beberapa jenis buah dan sayuran. Oleh karena itu diperlukan telaah lebih lanjut mengenai potensi penggunaan ozon pada biji-bijian terutama jagung dan beras sebagai komoditas prioritas di Indonesia. Tujuan dari tulisan ini adalah untuk menelaah peluang penggunaan ozon dalam mengurangi kontaminasi *Aspergillus flavus* dan cemaran aflatoksin pada produk biji-bijian, sehingga diharapkan dapat memperbaiki kualitas dan meningkatkan umur simpan produk. Hasil penelitian menunjukkan penggunaan ozon dapat menurunkan cemaran *Aspergillus flavus* dan aflatoksin pada biji-bijian sampai 50-90%.

Kata kunci: Biji-bijian, *Aspergillus flavus*, aflatoksin, ozon

ABSTRACT

Ozone can be used as an alternative to control mold and aflatoxins in grains that is more eco-friendly because it does not leave residues that are harmful for humans, animals and environment. The use of ozone was quite effective in reducing mold and aflatoxin in grains such as barley, whole wheat, corn and rice. In Indonesia, ozone was limited used for sterilization of fruit and vegetable. Therefore, the comprehensive review on the potential of ozone in grains is needed, especially on the corn and rice as the priority commodities in Indonesia. The objective of this review was to examine the opportunities of ozone to reduce *Aspergillus flavus* and aflatoxin in grains, so that it can improve its quality and shelf life. Many studies showed that the

use of ozone reduced *Aspergillus flavus* in grains by 50-90%.

Keywords: Grains, *Aspergillus flavus*, aflatoxin, ozone

PENDAHULUAN

Cemaran cendawan menurunkan mutu dan mempengaruhi umur simpan produk biji-bijian. Keberadaan cendawan terutama jenis *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* pada biji-bijian seperti jagung dan kacang tanah menjadi perhatian di berbagai negara karena kemampuannya untuk menghasilkan metabolit sekunder berupa aflatoksin. Aflatoksin bersifat toksik pada manusia dan hewan, dimana efek yang ditimbulkan oleh akumulasi toksin ini dapat menyebabkan gangguan imun dan kanker hati pada manusia, serta dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas hewan. Beberapa kasus aflatoksin yang cukup parah terjadi antara lain pada tahun 1974 di India dan di Kenya pada tahun 2001, 2004, dan 2010 yang menimbulkan banyak kematian dan penyakit kronis pada manusia dan hewan (Mutegi *et al.* 2018).

Aplikasi fungisida merupakan salah satu cara pengendalian cendawan yang banyak dilakukan oleh pelaku produksi pangan maupun pakan karena biayanya relatif murah, tetapi residu bahan kimia yang ditimbulkan menjadi masalah baru karena dapat menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan manusia. Salah satu alternatif pengendalian cendawan dan kontaminasi aflatoksin pada biji-bijian adalah melalui proses ozonisasi. Penelitian menunjukkan ozon cukup efektif mengatasi kontaminasi mikroba (bakteri, cendawan, virus, dan spora cendawan/

bakteri) pada beberapa produk pertanian. Penggunaan ozon diketahui dapat mengurangi cemaran patogen, serangga gudang, dan mampu mendegradasi mikotoksin (Cullen *et al.* 2009). Ozon terbukti mampu mengurangi populasi bakteri *E. coli* dan *Bacillus cereus* pada buah tin kering (*Ficus carica L.*) tanpa mempengaruhi sifat fisikokimianya (Akbas and Ozdemir 2008). Gas ozon juga mampu menginaktivasi mikroba pada produk hortikultura dan rempah seperti cabai merah (Inan *et al.* 2007; Asgar *et al.* 2015; Asgar *et al.* 2017), nanas (Widayanti *et al.* 2020), jeruk mandarin (Zhu *et al.* 2019), lada hitam (El-desouky *et al.* 2012; Emer *et al.* 2008), dan lada putih (Wahyuningsih *et al.* 2020). Menurut Asgar *et al.* (2017), perlakuan larutan ozon 0,4 ppm pada cabai merah dapat menurunkan residu pestisida seperti profenofos dan klorpirifos, serta menurunkan kontaminasi mikroba dan mempertahankan kualitas cabai selama penyimpanan. Hasil penelitian terhadap jeruk Satsuma mandarin menggunakan ozon mampu menurunkan aktivitas mikroba sehingga memperpanjang umur simpan buah (Zhu *et al.* 2019). Hasil penelitian Wahyuningsih *et al.* (2020) pada proses penanganan ulang biji lada putih dengan perendaman ozon dapat menurunkan kontaminasi mikroba sampai di bawah 3,4 cfu/g dan menurunkan konsentrasi senyawa penyebab bau menyimpang.

Penggunaan ozon pada biji-bijian dapat menekan kontaminasi mikroba dan mikotoksin terutama aflatoksin. Proses ozoninasi dalam bentuk gas dan cair dapat mengurangi jumlah mikroflora alami, seperti bakteri dan cendawan pada sereal dan produk olahannya, termasuk spora *Bacillus*, bakteri koliform, *micrococcus*, *Aspergillus* dan *Penicillium*. Studi menunjukkan penurunan cendawan terjadi karena proses oksidasi antara ozon dengan dinding sel yang menyebabkan sel rusak dan pecah, sedangkan penurunan mikotoksin terjadi karena adanya reaksi oksidasi yang menyebabkan terbentuknya senyawa baru yang mempunyai sifat berbeda dengan mikotoksin tersebut (Zhu 2018). Penggunaan ozon cukup efektif menginaktivasi 96% spora cendawan pada barley (Allen *et al.* 2003), menghambat pertumbuhan *A. flavus* sampai 95,6% dan mengurangi aflatoksin dengan kisaran 86,75-96,66% pada biji gandum (El-Desouky *et al.* 2012), menurunkan 88% kandungan aflatoksin B1 pada jagung (Luo *et al.* 2014), dan mengurangi 100% koloni *Aspergillus* spp. dan *Pencillium* spp. pada beras (Santos *et al.* 2016).

Penggunaan ozon untuk penanganan pascapanen produk pertanian di Indonesia masih terbatas untuk sanitasi dan pencucian beberapa komoditas buah dan sayuran seperti duku dan cabai (Kuswati *et al.* 2020; Setiasih *et al.* 2020). Aplikasi ozon juga masih bersifat inisiasi dalam skala kecil yang melibatkan pelaku usaha sebagai mitra kerja dari suatu lembaga pemerintah atau dinas terkait. Oleh karena itu perlu dilakukan telaah lebih lanjut mengenai potensi dan peluang aplikasi ozon pada berbagai produk biji-bijian, seperti jagung dan beras

yang menjadi komoditas strategis di Indonesia. Hasil studi menunjukkan ozon mempunyai beberapa keunggulan dibanding bahan kimia, antara lain tidak meninggalkan residu, tidak mempengaruhi kandungan nutrisi dan sifat produk, serta tidak membutuhkan ruang penyimpanan karena ozon langsung digunakan pada saat dihasilkan dari generator. Selain itu, penggunaan ozon dapat menghemat biaya transportasi dan penyimpanan, serta menghemat energi karena tidak membutuhkan energi panas (Pandiselvam *et al.* 2017). Tulisan ini menelaah peluang dan tantangan penggunaan ozon dalam mengurangi kontaminasi cendawan, terutama *A. flavus* dan cemaran aflatoksin pada produk biji-bijian, sehingga diharapkan dapat memperbaiki kualitas dan meningkatkan umur simpan produk.

OZON

Ozon merupakan salah satu oksidator kuat yang banyak digunakan sebagai agen disinfektan dan *sanitazier* pada berbagai produk pangan. Ozon berbentuk gas dan hampir tidak berwarna pada suhu kamar, berbau sedikit menyengat, dapat terurai dengan cepat pada suhu kamar dan ditemukan di atmosfer dalam konsentrasi yang sangat rendah. Ozon dapat diproduksi dengan beberapa metode, antara lain melalui proses pelepasan listrik dalam oksigen, elektrolisis air, fotokimia, dan radiokimia. Potensi oksidasi ozon relatif tinggi dibandingkan dengan klorin, sehingga mampu mengoksidasi bahan organik dan anorganik. Tingkat peluruhan ozon terutama dipengaruhi oleh suhu dan pH, dimana kenaikan keduanya akan memicu kenaikan tingkat peluruhannya. Waktu paruh ozon di dalam air suling pada pH 7 dan suhu 20°C berkisar antara 20-30 menit, dan akan berkurang pada saat suhu meningkat dimana pada suhu 35°C waktu paruh ozon menjadi 8-10 menit. Waktu paruh ozon sangat tinggi dalam larutan air pada kondisi pH di bawah 6,5 dan suhu dingin lalu akan berkurang dengan cepat ketika pH meningkat menjadi 8 dan suhu air juga meningkat (Cullen *et al.* 2009). Penelitian sebelumnya menunjukkan waktu paruh ozon pada air suling dengan pH 7 dan suhu ruang adalah 20-30 menit, dimana waktu paruh ozon akan turun seiring dengan kenaikan pH dan suhu. Waktu paruh ozon dilaporkan turun menjadi 0 menit ketika pH air suling naik menjadi 9 pada suhu ruang (Khadre *et al.* 2001).

Ozon dalam bentuk gas dan cair dapat diaplikasikan pada produk biji-bijian untuk menonaktifkan pertumbuhan bakteri, mencegah kerusakan karena cendawan, menghilangkan residu pestisida dan bahan kimia, mengendalikan hama gudang dan menurunkan aflatoksin (Udomkun *et al.* 2017). Faktor yang mempengaruhi inaktivasi cendawan dan penurunan toksin oleh ozon antara lain konsentrasi ozon, waktu paparan, pH dan kadar air biji (Tiwari *et al.* 2010). Aplikasi ozon pada kondisi kering kurang efektif dibandingkan pada kondisi lembab. Gas ozon yang dilarutkan dalam

air lebih efektif mendegradasi dan mendetoksifikasi mikotoksin seperti aflatoksin B1, B2, G1, dan G2, fumonisin B1, okratoksin A, dan *patulin*. Suhu biji juga berpengaruh terhadap efektivitas ozon mendegradasi mikotoksin. Penggunaan ozon pada suhu 75°C dilaporkan lebih efektif mendegradasi aflatoksin B1 pada kacang tanah dibanding suhu 25°C dengan waktu paparan yang sama (Proctor *et al.* 2004).

Mekanisme ozon untuk menghambat populasi mikroba seperti cendawan dan bakteri terjadi melalui proses oksidasi progresif komponen sel. Ozon mengoksidasi asam lemak tak jenuh ganda atau golongan sulfhidril dan asam amino dari enzim, peptida, dan protein menjadi fragmen molekul yang lebih pendek. Selain itu, ozon juga dapat mendegradasi dinding sel yang mengakibatkan gangguan sel dan menyebabkan perubahan permeabilitas sel sehingga pecah. Mekanisme ozon dalam menurunkan kontaminasi aflatoksin, terutama aflatoksin B1 (AFB1) dan aflatoksin G1 (AFG1), melibatkan reaksi elektrofilik pada ikatan rangkap C8-C9 cincin furan yang menyebabkan pembentukan senyawa *ozonide* yang kemudian akan disusun ulang menjadi turunan *monozonide* seperti aldehyd, keton, asam, dan karbon dioksida (Diao *et al.* 2013). Aflatoksin B2 (AFB2) dan aflatoksin G2 (AFG2) diketahui lebih tahan terhadap ozon dibanding AFB1 dan AFG1 karena tidak mempunyai ikatan rangkap C8-C9 dalam struktur molekulnya. Meskipun demikian, efisiensi ozon sebagai *detoxifier* kimia relatif tinggi, dimana konsentrasi yang lebih besar diperlukan untuk membunuh cendawan atau kontaminan yang ada di permukaan produk. Konsentrasi ozon yang rendah dan waktu paparan yang singkat umumnya digunakan untuk menjaga kualitas produk seperti warna, rasa, aroma, dan vitamin (Chen *et al.* 2014).

ASPERGILLUS FLAVUS

Kontaminasi cendawan, terutama jenis *Aspergillus flavus*, telah dilaporkan di India, Kenya, dan Brazil. Kontaminasi menjadi masalah utama dalam mempertahankan kualitas biji-bijian (Kumar *et al.* 2017; De Brito *et al.* 2018; Mutegi *et al.* 2018). Pakki dan Talanca (2006) melaporkan *A. flavus* dapat menginfeksi ke bagian internal biji. Infeksi ditemukan pada fase vegetatif dan generatif tanaman, serta pada tahapan penanganan pascapanen dan penyimpanan biji jagung dan kacang tanah. *A. flavus* memerlukan suhu yang lebih tinggi untuk tumbuh, tetapi mampu beradaptasi pada a_w (*water activity*) yang lebih rendah. Cendawan ini membutuhkan waktu yang lebih lama dan intensitas cahaya yang lebih untuk membentuk spora, tetapi mampu memproduksi spora yang lebih banyak dan lebih tahan terhadap bahan-bahan kimia. *A. flavus* menghasilkan kepala konidia yang biasanya memancar dan memiliki dinding yang relatif tipis dan kasar. Pertumbuhan koloni *A. flavus* menunjukkan warna oranye kekuningan yang cerah setelah 24-48 jam. Warna kuning kehijauan

diduga disebabkan oleh keberadaan *kojic acid* yang diproduksi cendawan dan dikonversi menjadi zat fluoresen oleh peroksidase jaringan tanaman (Jackson and Dobson 2016).

Tingkat penyebaran *A. flavus* cukup tinggi karena mampu bertahan hidup dalam kondisi lingkungan ekstrem dan tidak ideal bagi pertumbuhannya. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *A. flavus* antara lain kadar air, oksigen, suhu, kelembaban, dan keberadaan kapang lain. *A. flavus* dapat tumbuh optimal pada a_w 0,86 dan 0,96, dan mengalami germinasi spora pada a_w minimal 0,80 dengan kelembaban relatif (RH) minimal 80%. Pembentukan aflatoksin memerlukan kondisi lingkungan dengan a_w minimal 0,83 dan RH 83%. Rentang a_w untuk pertumbuhan cendawan tersebut sangat bervariasi bergantung pada suhu lingkungan. *A. flavus* dapat tumbuh pada suhu rendah 10-12°C dan suhu tinggi 50-55°C dengan suhu optimal mendekati 33°C. *A. flavus* dapat tumbuh lambat dengan diameter 30-40 mm, dan tumbuh cepat dengan diameter 60-70 mm pada suhu kamar (24-26°C) selama 10 hari. Cendawan ini dapat hidup pada rentang pH yang sangat luas, berkisar antara 2,1-11,2, dengan tingkat pertumbuhan cenderung lambat pada pH di bawah 3,5 (Jackson and Dobson 2016).

AFLATOKSIN

Aflatoksin merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh cendawan jenis *A. flavus* dan *A. parasiticus*. Kedua spesies cendawan tersebut mempunyai banyak kesamaan sifat, tetapi jenis toksin yang dihasilkan berbeda. *A. flavus* menghasilkan aflatoksin B, sedangkan *A. parasiticus* menghasilkan aflatoksin G (Jackson and Dobson 2016). Pendapat lain menyatakan *A. flavus* dapat menghasilkan aflatoksin B1 dan B2, sedangkan *A. paraciticus* menghasilkan aflatoksin B1, B2, G1, dan G2. Aflatoksin diklasifikasikan berdasarkan warna yang terbentuk di bawah sinar ultraviolet menjadi aflatoksin B (*Blue*) dan aflatoksin G (*Green*) (Abbas *et al.* 2009). Aflatoksin B1 paling toksik, sedangkan aflatoksin B2, G1, dan G2 tidak terlalu berbahaya dengan daya racun yang rendah, hanya seperenampuluh (1/60) sampai dengan seperseratus (1/100) kali dibandingkan aflatoksin B1. Aflatoksin B1 merupakan toksin yang paling berbahaya karena toksisitasnya tinggi terhadap hewan dan manusia. Oleh karena itu, aflatoksin B1 seringkali dipakai sebagai ambang batas maksimum aflatoksin dalam bahan pangan dan pakan (Bhatnagar *et al.* 2006). Aflatoksin terutama aflatoksin B1 menjadi isu penting dalam keamanan pangan berbagai produk biji-bijian karena bersifat karsinogenik, genotoksik, dan hepatoksik bagi manusia, serta bersifat nefrotoksik dan menurunkan kekebalan tubuh bagi hewan (Ahmad 2009).

Aflatoksin berperan penting menurunkan mutu sereal terutama di daerah tropis dan subtropis dengan suhu dan kelembaban yang mendukung untuk pertumbuhan cendawan, terutama *A. flavus* dan *A. parasiticus*. Produksi aflatoksin oleh cendawan dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain sifat biologis dan kimiawi spesies, substrat, temperatur, kelembaban, cahaya, aerasi, pH, sumber karbon dan nitrogen, faktor tekanan/stres, lemak, tekanan osmosis, dan potensi proses oksidasi-reduksi. Biosintesis aflatoksin adalah proses kompleks yang melibatkan banyak gen. Jalur ini bertanggung jawab terhadap biosintesis lima mikotoksin utama, yaitu *sterigmatocystin*, aflatoksin B1, B2, G1, dan G2. Aflatoksin disintesis dari *malonyl-CoA* dalam dua tahap. Tahap pertama ialah pembentukan *hexaonyl CoA*, dan tahap kedua berupa pembentukan *decaaketideanthraquinone*. Penelitian menunjukkan tekanan oksidatif berperan mengatur biosintesis aflatoksin oleh mikroorganisme (Roze *et al.* 2013).

Saat ini regulasi mengenai ambang batas cemaran aflatoksin pada jagung sebagai bahan pangan maupun pakan sangat ketat. Menurut SNI 8926:2020, ambang batas cemaran aflatoksin total pada jagung sebagai bahan pakan organik dan nonorganik maksimal 20 ppb untuk kelas mutu premium, 50 ppb untuk kelas mutu medium I, dan 100 ppb untuk kelas mutu medium II. Ambang batas cemaran aflatoksin total pada jagung sebagai bahan pangan organik dan nonorganik adalah 15 ppb untuk kelas mutu premium dan 20 ppb untuk kelas mutu medium I dan II (BSN 2020).

PELUANG APLIKASI OZON PADA BIJI-BIJIAN

Penggunaan ozon pada biji-bijian mempunyai efek fungisida dan detoksifikasi terhadap aflatoksin total dan AFB1. Beberapa studi menunjukkan ozon dapat mengendalikan spesies penghasil aflatoksin potensial seperti *A. flavus* dan *A. parasiticus*, serta mengurangi kandungan aflatoksin total dan AFB1 pada beberapa biji-bijian seperti gandum, beras, barley, jagung, kacang tanah (de Alencar *et al.* 2012; Diao *et al.* 2013). Beberapa hasil penelitian mengenai penggunaan ozon untuk mengurangi cemaran cendawan dan aflatoksin pada produk biji-bijian disajikan pada Tabel 1. Ilustrasi aplikasi ozon pada jagung skala laboratorium dapat dilihat pada Gambar 1, sedangkan ilustrasi aplikasi ozon pada biji-bijian skala industri disajikan pada Gambar 2.

Secara umum hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi, waktu, dan suhu pada saat paparan ozon menjadi faktor penting dalam proses degradasi kandungan aflatoksin dan inaktivasi cendawan pada produk. Semakin tinggi konsentrasi ozon dan waktu

paparan semakin tinggi tingkat degradasi total koloni cendawan, *Aspergillus* spp., dan aflatoksin. Sebaliknya, semakin rendah suhu pada saat perlakuan ozon semakin tinggi tingkat penurunan cendawan dan aflatoksin. Hasil studi paparan ozon pada barley menunjukkan kenaikan tingkat inaktivasi spora cendawan pada suhu paparan ozon 0-20°C lebih tinggi dibanding suhu 20-40°C (Allen *et al.* 2003). Paparan ozon pada suhu rendah lebih efektif mengurangi tingkat cemaran cendawan dan aflatoksin dibandingkan dengan suhu yang lebih tinggi karena terkait dengan waktu paruh ozon. Waktu paruh ozon merupakan umur efektif ozon sampai terurai menjadi oksigen. Semakin lama waktu paruh ozon semakin tinggi ketersediaan senyawa ozon yang diperlukan untuk proses oksidasi pada cendawan dan aflatoksin, sehingga proses penurunan cendawan dan aflatoksin berlangsung lebih intensif. Waktu paruh ozon sangat dipengaruhi oleh suhu dimana waktu paruh ozon cenderung menurun seiring dengan kenaikan suhu. Hasil penelitian menunjukkan waktu paruh ozon akan berkurang sekitar 38% ketika suhu perlakuan ozon naik dari 4°C menjadi 24°C, dan akan berkurang 48% ketika suhu perlakuan ozon naik menjadi 40°C (McClurkin *et al.* 2013).

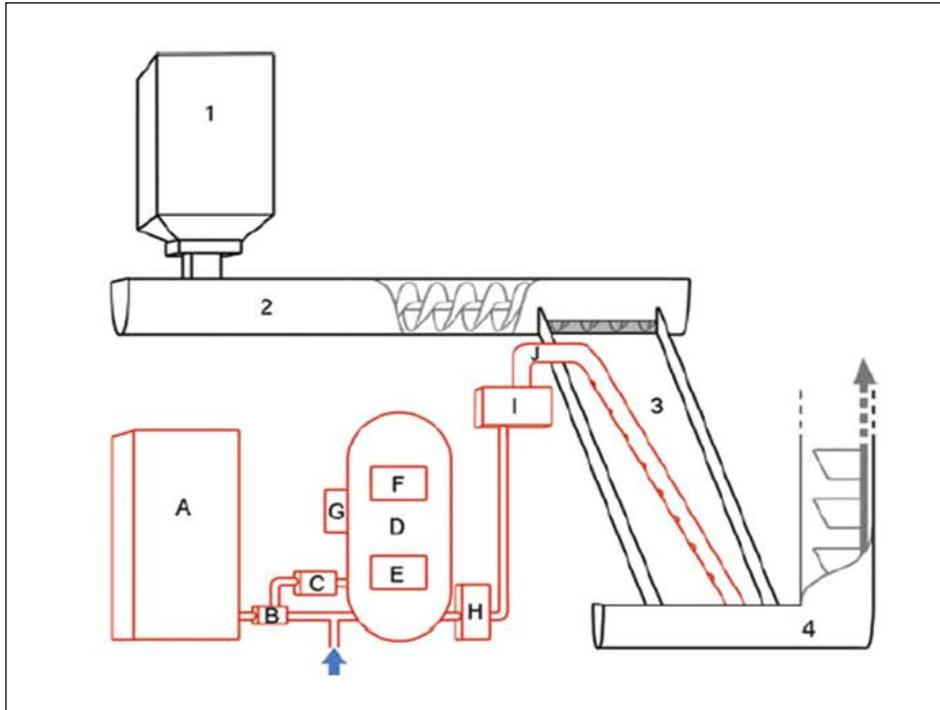
Selama ini industri pangan dan pakan sudah melakukan beberapa metode pengendalian infeksi cendawan sebelum dan selama proses penyimpanan biji-bijian, antara lain menggunakan teknik fumigasi dengan fungisida dan pestisida, penggunaan teknologi atmosfer terkendali dan pengondisian kadar air biji dengan proses pengeringan. Perlakuan ozon sangat berpotensi dikembangkan dan diaplikasikan sebagai salah satu metode alternatif untuk mengatasi infeksi cendawan seperti *A. flavus* dan aflatoksin pada komoditas biji-bijian. Perbandingan antar metode pengendalian cendawan pada biji-bijian ditunjukkan pada Tabel 2. Aplikasi ozon secara luas untuk produk pangan seperti buah, sayur, dan biji-bijian di Indonesia masih sangat terbatas. Selama ini masih sedikit pelaku usaha agribisnis yang bermitra dengan instansi pemerintah dan dinas terkait yang menggunakan ozon sebagai agen sanitasi dan sterilisasi untuk pencucian produk, terutama dari kontaminasi mikroba dan pestisida (Setiasih *et al.* 2020). Hal itu disebabkan oleh banyak faktor antara lain kurangnya akses informasi para pelaku usaha terhadap teknologi ozon pada produk pangan, dan keterbatasan sarana prasarana yang mendukung pelaku usaha untuk menggunakan teknologi ozon. Untuk mengatasi hal tersebut maka peran pemerintah dan dinas terkait sangat diperlukan untuk meningkatkan implementasi teknologi ozon di lapangan. Selain itu, dukungan dan peran aktif dari pelaku industri pangan maupun pakan yang merupakan pengguna utama komoditas biji-bijian juga sangat penting, sehingga penggunaan ozon untuk mengendalikan cendawan dan aflatoksin yang lebih ramah lingkungan dapat diaplikasikan secara lebih masif.

Tabel 1. Hasil penelitian penggunaan ozon pada berbagai produk biji-bijian.

Komoditas	Metode/kondisi proses	Tingkat pengurangan terhadap cendawan dan aflatoksin	Sumber
Barley	Gas ozon dialirkan ke dalam reaktor tertutup berisi 50 g barley dengan dosis 0,4-1,4 ppm dan suhu 0, 20, 40°C	- Paparan ozon 0,16 ppm dan 0,10 ppm selama 5 menit dapat menginaktivasi 96% spora cendawan - Kenaikan suhu dari 0-20°C meningkatkan inaktivasi spora cendawan 22,25%, tetapi kenaikan suhu 20-40°C inaktivasi spora cendawan hanya naik 9,75%.	Allen <i>et al.</i> 2003
Kacang tanah	Gas ozon dialirkan pada tabung berisi 25 g kacang tanah pada suhu 25, 50, dan 75°C selama 5-15 menit.	Ozonisasi pada suhu 75°C selama 10 menit dapat mendegradasi AFB1 77%, AFG1 8%, AFB2 dan AFG2 52%.	Proctor <i>et al.</i> 2004
Gabah, gandum, jagung pipil	Gas ozon dialirkan pada reaktor berisi gabah (AFB1 50 ppb), gandum (AFB1 25 ppb), dan jagung (AFB1 100 ppb). Metode ozonisasi: kering (gas ozon), basah (uap air-ozon) dan cair (perendaman). Konsentrasi ozon 4,8 ppm, waktu paparan 12 jam pada suhu kamar.	Ozonisasi metode basah mendegradasi AFB1 pada gabah 94,4%, biji gandum 85,5% dan jagung pipil 85,0%.	Wang <i>et al.</i> 2010
Kacang tanah	Gas ozon (13 ppm, 21 ppm) dialirkan ke dalam tabung berisi 1 kg kacang tanah pada suhu 25°C dan waktu paparan: 0, 24, 48, 72, 96 jam	Ozon 21 ppm dan waktu paparan 96 jam mengurangi aflatoksin total 30% dan aflatoksin B1 25%, cemaran <i>A. flavus</i> 60% dan total koloni cendawan 3 log CFU/g	de Alencar <i>et al.</i> 2012
Jagung pipil	Ozon 47.800 ppm dalam bentuk uap air disemprotkan pada jagung pipil di atas conveyor selama 1,8 menit	Pengurangan 96% <i>A. flavus</i> dalam satu kali paparan 1,8 menit dan tiga kali paparan dapat mengurangi populasi cendawan lebih dari 2 log CFU/g.sa	McDonough <i>et al.</i> 2011
Biji gandum utuh	Gas ozon (20 ppm, 40 ppm) dialirkan selama 5-20 menit pada biji gandum (AFB1 10 ppb dan 20 ppb) dan media <i>yeast extract sucrose</i> yang diinokulasi dengan suspensi <i>A. flavus</i> 1%	Konsentrasi 40 ppm dan waktu paparan 20 menit dapat menghambat pertumbuhan <i>A. flavus</i> 95,6% dan mengurangi aflatoksin B1 86,75% dan 96,66% dengan cemaran aflatoksin awal 10 ppb dan 20 ppb	El-Desouky <i>et al.</i> 2012
Jagung pipil	Gas ozon dialirkan ke dalam tabung gelas 1 L berisi 100 g jagung pipil (kadar air 13,47% dan 20,37%) pada suhu 25°C dan RH 75%. Konsentrasi ozon: 40 ppm, 65 ppm, dan 90 ppm, waktu paparan: 0, 5, 10, 20, dan 40 menit	AFB1 pada jagung dengan kadar air 13,47% lebih mudah terdegradasi, dan paparan ozon 90 ppm selama 40 menit menurunkan AFB1 88% dari 83 ppb menjadi 9,9 ppb	Luo <i>et al.</i> 2014
Kacang tanah	Ozon dialirkan ke dalam kotak ukuran 3L berisi 1 kg kacang tanah pada suhu kamar dan RH 65-75%. Kadar air kacang tanah: 2, 5, 8%; konsentrasi ozon: 3, 4,5, 6, 7,5%; waktu paparan: 10, 20, 30, 60, 120 menit	Paparan ozon 6 ppm selama 30 menit dapat mengurangi aflatoksin total 65,8% dan aflatoksin B1 65,9%	Chen <i>et al.</i> 2014
Malting-barley (kering)	Ozon 9,8 ppm disemprotkan (pengkabutan) dengan kecepatan 1,2 liter/jam pada barley (kadar air 16,40%) yang berjalan diatas conveyor dengan kecepatan 25 t/jam	Perlakuan ozon 9,8 ppm dapat mengurangi <i>Fusarium</i> sp. 80% dan <i>A. flavus</i> 70% pada barley	Spanoghe <i>et al.</i> 2016
Beras	Ozon 10,13 ppm dialirkan ke dalam tabung PVC berisi 500 g beras (kadar air 14,3%) yang telah diinokulasi dengan kultur <i>Aspergillus</i> sp. dan <i>Penicillium</i> sp. dengan waktu paparan 12, 24, 36, 48, dan 60 jam.	Paparan ozon selama 60 menit mengurangi 100% cemaran <i>Aspergillus</i> spp. dan <i>Penicillium</i> spp.	Santos <i>et al.</i> 2016
Jagung pipil	- 25 g jagung pipil difortifikasi dengan aflatoksin 50 ppb dan cendawan <i>Aspergillus</i> sp. dengan koloni 10 ⁵ CFU/g - Ozon dialirkan ke dalam tabung silinder yang berisi jagung pipil bersih (1, 3, dan 5 kg) dan 25 g jagung pipil fortifikasi yang ditempatkan di tengah tabung. Konsentrasi ozon: 20, 40, 60 ppm; waktu paparan: 120, 300, 480 menit.	Konsentrasi ozon 60 ppm dan waktu paparan 480 menit pada 1 kg jagung mengurangi total koloni <i>Aspergillus</i> spp. 99,74 % dan aflatoksin B1 57%, AFB2 30%, AFG1 54,6% dan AFG2 36,1%	Porto <i>et al.</i> 2019



Gambar 1. Ilustrasi aplikasi gas ozon pada jagung pipil skala laboratorium: (a) suhu ruang, (b) suhu dingin menggunakan *styrofoam coolbox*, dan (c) suhu panas menggunakan *waterbath*. (Sumber: Hidayah 2021).



Gambar 2. Ilustrasi aplikasi gas ozon pada biji-bijian pada industri *malting barley* di Belgia: 1. Silo penyimpanan, 2. *Screw*, 3. *Plate conveyor*, 4. Elevator, A) Generator ozon, B) Katup pipa, C) Pompa ozon, D) Tanki ozon berisi air, E) Ozometer pengukur ozon dari generator, F) Ozometer pengukur ozon di udara, G) Pengurai gas ozon, H) Pompa, I) Alat pengkabut ultrasonik, dan J) Pipa homogeniser kabut ozon (Sumber: Spanoghe *et al.* 2015)

Tabel 2. Metode pengendalian cendawan pada beberapa produk pangan.

Metode pengendalian	Kelebihan	Kekurangan	Sumber
Perlakuan kimia (klorin/fumigasi/fungisida)	Biaya relatif murah dan praktis dalam aplikasi di lapang	Meninggalkan residu kimia pada produk, dan berbahaya bagi produk, dan berbahaya bagi kesehatan manusia dan lingkungan	Spanoghe <i>et al.</i> 2015; Afsah-Hejri <i>et al.</i> 2020
Pengeringan	Mudah diaplikasikan	Biaya cukup mahal, dan tingkat pengendalian cendawan tergantung Kondisi penyimpanan	Pandiselvam <i>et al.</i> 2017
Perlakuan ozon	Tidak meninggalkan residu pada produk dan biaya relatif murah	Ozon bersifat korosif sehingga perlu modifikasi proses pada saat aplikasi di lapang/industri	Pandiselvam <i>et al.</i> 2017; Spanoghe <i>et al.</i> 2015; Afsah Hejri <i>et al.</i> 2020

APLIKASI OZON PADA BIJI-BIJIAN

Aplikasi ozon pada biji-bijian seperti beras dan jagung pada skala industri di Indonesia masih belum dilakukan. Selama ini ozon digunakan oleh industri pangan secara luas untuk keperluan sanitasi dan dekontaminasi permukaan produk serta sterilisasi ruangan (Guzel-Seydim *et al.* 2004). Ozon mulai dikembangkan untuk mengurangi cemaran cendawan pada industri *malting barley* di Belgia melalui proses disinfeksi menggunakan teknik pengkabutan ozon pada biji barley sebelum dimasukkan ke dalam ruang penyimpanan (Spanoghe *et al.* 2016). Proses disinfeksi dan dekontaminasi cendawan pada penyimpanan biji-bijian di Indonesia masih menggunakan fungisida, baik pada industri pakan ternak maupun fasilitas gudang penyimpanan milik pemerintah seperti gudang penyimpanan beras di BULOG. Penggunaan fungisida menjadi pilihan utama karena biayanya relatif murah dan lebih praktis dari segi implementasi di lapangan (Hidayah 2021).

Hasil penelitian menunjukkan ozon sangat berpotensi dikembangkan dan diaplikasikan lebih luas pada berbagai produk pangan, terutama biji-bijian sebagai agen antimikroba dan detoksifikasi aflatoksin yang masih menjadi masalah krusial dalam penanganan pascapanen biji-bijian di daerah tropis seperti Indonesia. Selama ini industri pangan maupun pakan dimana biji-bijian (seperti jagung dan kacang tanah) menjadi bahan baku utamanya masih menggunakan fungisida sebagai metode pengendalian cendawan sebelum dan selama penyimpanan, sehingga aplikasi ozon terutama dalam bentuk gas diharapkan dapat menjadi salah satu solusi alternatif untuk pengendalian cendawan dan aflatoksin yang lebih ramah lingkungan dan aman bagi kesehatan manusia dan hewan. Penggunaan ozon pada biji-bijian terbukti cukup efektif memperbaiki mutu dan meningkatkan umur simpan tanpa menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi manusia, hewan, dan lingkungan. Badan pengawas obat dan makanan (*Food and Drug Administration, FDA*) di Amerika Serikat menyatakan ozon aman (*GRAS: Generally recognized as safe*) untuk digunakan dan dapat

diaplikasikan secara langsung sebagai antimikroba pada industri pangan (Gao *et al.* 2020).

Beberapa keunggulan ozon antara lain tidak meninggalkan residu, tidak mempengaruhi kandungan nutrisi dan sifat produk, serta tidak membutuhkan ruang penyimpanan karena ozon langsung digunakan pada saat dihasilkan dari generator, sehingga dapat menghemat biaya transportasi dan penyimpanan (Pandiselvam *et al.* 2017). Hasil studi menunjukkan ozon akan terurai secara otomatis setelah mencapai umur paruhnya selama 20-50 menit dan tidak meninggalkan residu yang berbahaya pada produk yang diberi perlakuan. Perlakuan ozon pada biji-bijian yang lebih lama (enam kali paparan) tidak berpengaruh terhadap kualitas nutrisi dan sifat produk olahannya. Selain itu, penggunaan ozon juga tidak mempengaruhi komposisi kimia produk yang diberi perlakuan, seperti kandungan asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh pada biji. Hasil studi sebelumnya menunjukkan penggunaan ozon 50 ppm setelah 30 hari tidak berpengaruh terhadap perubahan asam lemak dan asam amino pada kedelai, gandum, dan jagung, dan tingkat kepulenan beras serta sifat tepung dari gandum dan jagung (Mendez *et al.* 2002). Chen *et al.* (2014) melaporkan kacang tanah yang diberi perlakuan ozon menunjukkan tingkat detoksifikasi aflatoksin yang meningkat, dan aplikasi ozon tidak mempengaruhi kandungan polifenol, *resveratrol*, asam, dan peroksida pada sampel perlakuan.

TANTANGAN DALAM APLIKASI OZON

Penggunaan ozon dilaporkan efektif mengurangi kontaminasi mikroba berbagai komoditas, tetapi ada beberapa hal yang perlu menjadi perhatian, antara lain keamanan pangan, risiko paparan, kemungkinan kontaminasi *post-ozonisasi*, penerimaan konsumen, dan potensi korosifitas, penetrasi yang rendah, dan waktu paruh yang pendek. Hal ini merupakan pembatas aplikasi ozon dalam skala komersial, sehingga belum banyak dimanfaatkan oleh industri pangan maupun pakan.

Penelitian dan pengkajian lebih lanjut diperlukan untuk mengatasi masalah tersebut. Beberapa diantaranya yang perlu diteliti adalah standarisasi kondisi aplikasi proses ozonisasi, sehingga menghasilkan teknologi yang aman, hemat biaya, dan efektif untuk industri.

Ozon sangat reaktif dan bereaksi dengan zat organik seperti tubuh manusia. Oleh karena itu diperlukan pemantauan lingkungan kerja dan pekerja yang memiliki kontak dengan ozon. Gas ozon terutama mempengaruhi saluran pernapasan manusia sehingga harus diberikan perhatian khusus dalam proses pengaplikasiannya atau ketika berada di lingkungan terpapar ozon (Zhu 2018). Penerapan ozon di pabrik pengolahan makanan, ruang penyimpanan, dan ruang pengemasan memerlukan perubahan desain dan peralatan, modifikasi proses, dan pelatihan. Biaya yang terkait dengan perubahan tersebut perlu menjadi perhatian, terutama terkait dengan adaptasi teknologi yang diperlukan (Afsah-Hejri *et al.* 2020). Conte *et al.* (2020) menyatakan uji aplikasi skala pilot harus dilakukan sebelum memulai aplikasi komersial, karena setiap aplikasi ozon bersifat unik. Fasilitas industri teknologi ozon masih harus dikembangkan untuk pengolahan produk pangan maupun pakan dalam skala besar yang membutuhkan masukan dari berbagai disiplin ilmu.

Hasil penelitian sebelumnya menyatakan aplikasi ozon tidak menghasilkan residu ozon, tetapi menurut Conte *et al.* (2020) peluang terbentuknya residu setelah perlakuan ozon perlu dipastikan dengan uji toksikologi *in vivo* dan *in vitro*. Pengujian diperlukan untuk menyaring efek produk degradasi ozon terhadap kesehatan manusia dan hewan. Dalam hal ini diperlukan teknologi baru serta perbaikan dan inovasi dalam generator dan aplikasi ozon, sehingga dapat dipastikan kualitas dan keamanan produk makanan serta pakan yang diozonisasi.

Sipos *et al.* (2021) menyatakan tantangan utama ke depan adalah mengembangkan prosedur baru yang dapat mencapai efisiensi detoksifikasi yang tinggi dalam spektrum yang luas. Teknologi dekontaminasi baru yang muncul seharusnya tidak mengubah sifat fisik-kimia produk makanan dan pakan yang diolah, dan tidak ada residu toksik dari mikotoksin yang tertinggal dalam produk yang didekontaminasi. Untuk aplikasi ke depan, kombinasi perlakuan seperti ozonisasi dan iradiasi ultraviolet (untuk biji-bijian dan jus apel), air ozonisasi dan penyesuaian pH menggunakan asam organik (untuk mencuci buah), gas ozon dan tekanan tinggi (untuk tepung), dan gas ozon kombinasi dengan perlakuan panas (untuk buah kering) dapat digunakan untuk mengurangi konsentrasi ozon atau waktu paparan dan memodernisasi dampak negatif ozon terhadap sifat fisikokimia produk yang diolah (Conte *et al.* 2020).

Aplikasi ozon untuk disinfeksi dan dekontaminasi biji-bijian berpotensi diaplikasikan lebih luas pada industri pangan maupun pakan karena ozon mempunyai beberapa keunggulan, antara lain bebas bahan kimia, tidak meninggalkan residu pada produk sehingga tidak

berbahaya bagi manusia dan hewan, serta lebih ramah lingkungan. Selain itu, penggunaan ozon tidak menggunakan panas sehingga lebih hemat biaya dan tidak menimbulkan efek rumah kaca pada lingkungan (Afsah-Hejri *et al.* 2020).

KESIMPULAN

Penggunaan ozon dapat menurunkan cemaran *A. flavus* dan aflatoxin pada biji-bijian cukup tinggi dengan kisaran 50-90%, sehingga berpotensi untuk dikembangkan dan diaplikasikan pada produk biji-bijian dalam skala yang lebih luas, baik pada industri pangan maupun pakan. Penggunaan ozon yang lebih ramah lingkungan pada produk biji-bijian diharapkan dapat memperbaiki kualitas dan meningkatkan umur simpan produk tanpa menimbulkan efek samping dan perubahan kandungan nutrisi serta komposisi kimianya.

Untuk meningkatkan efisiensi, keamanan, dan memperluas aplikasi ozon pada skala komersial masih diperlukan berbagai penelitian dan kajian untuk perbaikan dan inovasi dalam generator ozon dan aplikasinya. Guna meningkatkan aplikasi dan implementasi penggunaan ozon untuk disinfeksi dan dekontaminasi pada biji-bijian diperlukan terobosan dan kebijakan dari pemerintah terkait dengan penggunaan bahan dan teknologi yang ramah lingkungan, sehingga pelaku industri akan beralih pada penggunaan ozon untuk metode disinfeksi dan dekontaminasi produk yang lebih ramah lingkungan.

PERNYATAAN KONTRIBUSI

Sebagai kontributor utama dalam penulisan artikel ini adalah Nikmatul Hidayah, Christina Winarti, dan Usman Ahmad.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, H.K., Wilkinson, J.R., Zablotowicz, R.M., Accinelli, C., Abel, C.A., Bruns, H.A. and Weaver, M.A. (2009). Ecology of *Aspergillus flavus*, regulation of aflatoxin production, and management strategies to reduce aflatoxin contamination of corn. *Toxin Reviews* 28(2-3): 142-153. doi: 10.1080/15569540903081590.
- Afsah-Hejri, L., Hajeb, P. and Ehsani, R.J. (2020). Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19(4), pp. 1777-1808. doi: 10.1111/1541-4337.12594.
- Ahmad, R.Z. (2009). Cemaran Kapang pada Pakan dan Pengendaliannya. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 28(1): 15-22. doi: 10.21082/jp3.v28n1.2009.p15.
- Akbas, M.Y. and Ozdemir, M. (2008). Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. *Food Microbiology* 25(2): 386-391. doi: 10.1016/j.fm.2007.09.007.
- de Alencar, E.R., Faroni, L.R.D.A., Soares, N. de F.F., da Silva, W.A. and da Silva Carvalho, M.C. (2012). Efficacy of ozone as a

- fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92(4): 899–905. doi: 10.1002/jsfa.4668.
- Allen, B., Wu, J. and Doan, H. (2003). Inactivation of fungi associated with barley grain by gaseous ozone. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 38(5): 617–630. doi: 10.1081/PFC-120023519.
- Asgar, A., Musaddad, D., Setyabudi, D.A. dan Hasan, Z.H. (2015). Teknologi Ozonisasi Untuk Mempertahankan Kesegaran Cabai Cultivar Kencana Selama Penyimpanan. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian* 12(1): 20–26. doi: 10.21082/jpasca.v12n1.2015.20-26.
- Asgar, A., Musaddad, D. dan Sutarya, R. (2017). Pengaruh Ozonisasi dan Kemasan untuk Mereduksi Residu Pestisida dan Mempertahankan Karakteristik Kesegaran Cabai Merah dalam Penyimpanan. *Jurnal Hortikultura* 27(2): 241–252. doi: 10.21082/jhort.v27n2.2017.p241-252.
- Badan Standarisasi Nasional 2020. *SNI 8926: (2020). Jagung*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional. Available at: BSN.go.id.
- Bhatnagar, D., Cary, J.W., Ehrlich, K., Yu, J. and Cleveland, T.E. (2006). Understanding the genetics of regulation of aflatoxin production and *Aspergillus flavus* development. *Mycopathologia* 162(3): 155–166. doi: 10.1007/s11046-006-0050-9.
- Brito Junior, J.G., Faroni, L.R.D. antonin., Cecon, P.R., Do Nascimento Benevenuto, W.C.A., Benevenuto, A.A. and Heleno, F.F. (2018). Efficacy of ozone in the microbiological disinfection of maize grains. *Brazilian Journal of Food Technology* 21: 1–8. doi: 10.1590/1981-6723.02217.
- Chen, R. *et al.* (2014). Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts. *Food Chemistry* 146: 284–288. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.059>.
- Conte, G., Fontanelli, M., Galli, F., Cotrozzi, L., Pagni, L. and Pellegrini, E. (2020). Mycotoxins in feed and food and the role of ozone in their detoxification and degradation: An update. *Toxins* 12(8): 1–19. doi: 10.3390/toxins12080486.
- Cullen, P.J., Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P. and Muthukumarappan, K. (2009). Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. *Trends in Food Science and Technology* 20(3–4): 125–136. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2009.01.049>.
- Diao, E., Hou, H., Chen, B., Shan, C. and Dong, H. (2013). Ozonolysis efficiency and safety evaluation of aflatoxin B1 in peanuts. *Food and Chemical Toxicology* 55: 519–525. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.038>.
- El-Desouky TA, Sharoba AMA, El-Desouky AI, El-Mansy HA, N.K. (2012). Effect of Ozone Gas on Degradation of Aflatoxin B1 and *Aspergillus Flavus* Fungal. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology* 02(02): 1–6. doi: 10.4172/2161-0525.1000128.
- Emer, Z., Akbas, M.Y. and Ozdemir, M. (2008). Bactericidal activity of ozone against *Escherichia coli* in whole and ground black peppers. *Journal of Food Protection* 71(5): 914–917. doi: 10.4315/0362-028X-71.5.914.
- Gao, C. *cong et al.* (2020). Effects of ozone concentration on the postharvest quality and microbial diversity of Muscat Hamburg grapes. *RSC Advances* 10(15): 9037–9045. doi: 10.1039/c9ra10479h.
- Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K. and Seydim, A.C. (2004). Use of ozone in the food industry. *LWT - Food Science and Technology* 37(4): 453–460. doi: 10.1016/j.lwt.2003.10.014.
- Hidayah, N. (2021). *Aplikasi Ozon untuk Mempertahankan Mutu Jagung selama Penyimpanan*. Tesis: IPB University. Available at: <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/108029>.
- Inan, F., Pala, M. and Doymaz, I. (2007). Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research* 43(4): 425–429. doi: 10.1016/j.jspr.2006.11.004.
- Jackson, S.A. and Dobson, A.D.W. (2016). *Yeasts and Molds: Aspergillus flavus*. Elsevier. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.01086-6>.
- Khadre, M.A., Yousef, A.E. and Kim, J.G. (2001). Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. *Journal of Food Science* 66(9): 1242–1252. doi: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb15196.x.
- Kumar, P., Mahato, D.K., Kamle, M., Mohanta, T.K. and Kang, S.G. (2017). Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. *Frontiers in Microbiology* 7(JAN): 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2016.02170.
- Kuswati, A.A., Darmawati, E. dan Mariana Widayanti, S. (2020). Aplikasi Ozon Untuk Mempertahankan Kualitas Buah Duku. *Jurnal Keteknik Pertanian* 8(1): 15–22. doi: 10.19028/jtep.08.1.15-22.
- Luo, X., Wang, R., Wang, L., Li, Y., Bian, Y. and Chen, Z. (2014). Effect of ozone treatment on aflatoxin B1 and safety evaluation of ozonized corn. *Food Control* 37(1): 171–176. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.043>.
- McClurkin, J.D., Maier, D.E. and Ikleji, K.E. (2013). Half-life time of ozone as a function of air movement and conditions in a sealed container. *Journal of Stored Products Research* 55: 41–47. doi: 10.1016/j.jspr.2013.07.006.
- McDonough, M.X., Campabadal, C.A., Mason, L.J., Maier, D.E., Denvir, A. and Woloshuk, C. (2011). Ozone application in a modified screw conveyor to treat grain for insect pests, fungal contaminants, and mycotoxins. *Journal of Stored Products Research* 47(3): 249–254. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2011.04.001>.
- Mendez, F., Maier, D.E., Mason, L.J. and Woloshuk, C.P. (2002). Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. *Journal of Stored Products Research* 39(1): 33–44. doi: 10.1016/S0022-474X(02)00015-2.
- Mutegi, C.K., Cotty, P.J. and Bandyopadhyay, R. (2018). Prevalence and mitigation of aflatoxins in Kenya (1960-to date). *World Mycotoxin Journal* 11(3): 341–357. doi: 10.3920/WMJ2018.2362.
- Pakki, S. and Talanca, A. (2006). Pengelolaan Penyakit Pascapanen Jagung. *Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros* (1991), pp. 351–363.
- Pandiselvam, R., Sunoj, S., Manikantan, M.R., Kothakota, A. and Hebbar, K.B. (2017). Application and Kinetics of Ozone in Food Preservation. *Ozone: Science and Engineering* 39(2): 115–126. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/01919512.2016.1268947>.
- Porto, Y.D., Trombete, F.M., Freitas-Silva, O., de Castro, I.M., Direito, G.M. and Ascheri, J.L.R. (2019). Gaseous ozonation to reduce aflatoxins levels and microbial contamination in corn grits. *Microorganisms* 7(8): 1–10. doi: 10.3390/microorganisms7080220.
- Proctor, A.D., Ahmedna, M., Kumar, J. V. and Goktepe, I. (2004). Degradation of aflatoxins in peanut kernels/flour by gaseous ozonation and mild heat treatment. *Food Additives and Contaminants* 21(8): 786–793. doi: 10.1080/02652030410001713898.
- Roze, L. V., Hong, S.Y. and Linz, J.E. (2013). Aflatoxin biosynthesis: Current frontiers. *Annual Review of Food Science and Technology* 4(1): 293–311. doi: 10.1146/annurev-food-083012-123702.
- Santos, R.R., Faroni, L.R.D., Cecon, P.R., Ferreira, A.P.S. and Pereira, O.L. (2016). Ozone as fungicide in rice grains. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 20(3): 230–235. doi: 10.1590/1807-1929/agriambi.v20n3p230-235.

- Setiasih, I.S., Mardawati, E., Hanidah, I.I., Andoyo, R., Sukarminah, E., Djali, M., Rialita, T., dan Cahyana, Y. (2020). Implementasi Proses Ozonasi pada Cabe Merah di Sub Terminal Agribisnis Kabupaten Ciamis. *Jurnal Aplikasi Ipteks untuk Masyarakat* 9(3): 194–198.
- Sipos, P., Peles, F., Brassó, D.L., Béri, B., Pusztahelyi, T., Pócsi, I. and Györi, Z. (2021). Physical and Chemical Methods for Reduction in Aflatoxin Content of Feed and Food. *Toxins* 13(3): 1–17. doi: 10.3390/toxins13030204.
- Spanoghe, M., Allard, O., Delvoe, S., Marique, T. and Van Koninckxloo, M. (2016). Industrial-scale Malting Barley (*Hordeum vulgare* L.) Seed Disinfection by Fog of Ozonated Water Application. *Ozone: Science and Engineering* 38(2): 115–123. doi: 10.1080/01919512.2015.1079118.
- Tiwari, B.K., Brennan, C.S., Curran, T., Gallagher, E., Cullen, P.J. and O’Donnell, C.P. (2010). Application of ozone in grain processing. *Journal of Cereal Science* 51(3): 248–255. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2010.01.007>.
- Udomkun, P., Wiredu, A.N., Nagle, M., Müller, J., Vanlauwe, B. and Bandyopadhyay, R. (2017). Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application – A review. *Food Control* 76: 127–138. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.01.008.
- Wahyuningsih, K., Winarti, C., Kailaku, S.I. dan Hernani, H. (2020). Pengaruh Penanganan Ulang Secara Termal dan Non-Termal terhadap Tingkat Kontaminasi Mikroba dan Bau Menyimpang pada Lada Putih. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 26(2): 108–118. doi: 10.21082/jlitri.v26n2.2020.108-118.
- Wang, S., Liu, H., Lin, J., Cao, Y. (2010). Can ozone fumigation effectively reduce aflatoxin B1 and other mycotoxins contamination on stored grain? In: *Julius-Kühn-Archiv.*, p. 582–588. doi: 10.5073/jka.2010.425.167.172.
- Widayanti, S.M., Iriani, E.S. dan Winarti, C. (2020). Pengaruh Perlakuan Ozon Terhadap Umur Simpan Buah Nenas (*Ananas Comosus* L.). In: *Prosiding Seminar Online: Peran pangan fungsional dan nutraseutikal dalam meningkatkan sistem imun mencegah covid-19*. Bogor (ID): Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian, pp. 154–159.
- Zhu, F. (2018). Effect of ozone treatment on the quality of grain products. *Food Chemistry* 264: 358–366. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.047>.
- Zhu, X., Jiang, J., Yin, C., Li, G., Jiang, Y. and Shan, Y. (2019). Effect of ozone treatment on flavonoid accumulation of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* marc.) during ambient storage. *Biomolecules* 9(12): 1–12. doi: 10.3390/biom9120821.