

DETEKSI AFLATOKSIN B1 (AF B1) PADA PAKAN, JAGUNG DAN HATI SAPI DENGAN TEKNIK ELISA

Muflihanah, Dyah Ayu H, M.Idris, Suriani, Husni Husain, Irmayanti

ABSTRAK

Telah dilakukan analisa aflatoksin B1 (AF B1) pada pakan unggas (23 sampel), jagung (7 sampel) dan hati sapi (11 sampel) yang diperoleh dari kiriman pelanggan dan beberapa daerah di Wilayah Kerja Bali Besar Veteriner Maros. Pengujian dilakukan dengan menggunakan dengan menggunakan teknik *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Dari hasil analisa menunjukkan bahwa sebanyak 21 (91, 3%) sample pakan unggas dan jagung 2 sampel (28, 7%) mengandung aflatoksin melebihi batas maksimum residu (50 ppb) dan pada hati sapi terdapat 3 sampel (27,3 %) yang mempunyai konsentrasi lebih besar dari BMR (20 ppb).

Dari analisa tersebut disimpulkan bahwa pakan unggas, jagung dan hati sapi yang beredar di beberapa daerah wilayah kerja Balai Besar Veteriner Maros mengandung residu aflatoksin.

Kata Kunci : Aflatoksin, Pakan unggas, Jagung, Hati Sapi, ELISA

PENDAHULUAN

Perkembangan peternakan terutama industri perunggasan yang pesat di Indonesia berdampak terhadap peningkatan kebutuhan pakan. Upaya pemenuhan kebutuhan ini tidak saja berdasarkan jumlah/kuantitasnya, tetapi juga kualitas pakan tersebut sangat menentukan mutu produk ternak yang akan dihasilkan agar bebas dari residu bahan-bahan yang dapat mengganggu kesehatan manusia (Supritianto,1998).

Kualitas pakan sangat bergantung pada kualitas komoditas pertanian yang digunakan sebagai bahan baku pakan, antara lain jagung yang merupakan komposisi terbanyak, dedak, kacang kedelai dan bahan-bahan tambahan lain. Salah satu faktor yang secara alamiah dapat mempengaruhi mutu bahan pakan tersebut adalah kapang pencemar. Hal ini cukup memberikan peluang yang besar karena dimungkinkan oleh karena iklim tropis Indonesia yang memiliki tingkat kelembaban, curah hujan yang tinggi dan suhu yang cocok untuk perkembangbiakan kapang seperti *Aspergillus* spp.

Aspergillus spp dapat mencemari bahan-bahan pakan tersebut dan memanfaatkannya sebagai substrat. Pakan atau bahan pakan yang telah tercemar oleh kapang *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* sudah dipastikan mengandung senyawa toksik aflatoksin, karena kedua jenis kapang ini dalam pertumbuhannya lebih lanjut akan menghasilkan metabolit sekunder yang disebut aflatoksin (B1,B2,G1 dan G2). (Diner dan Davis 1969, dalam Rachmawati 2003)

Dari hasil pemeriksaan pakan di Balai penelitian Veteriner Bogor disebutkan bahwa jenis aflatoksin B1 yang paling banyak ditemukan dalam pakan dibandingkan aflatoksin jenis B2, G1 dan G2. AFB1 merupakan aflatoksin yang paling sering dijumpai di alam dan sekaligus juga merupakan yang paling toksik (Bahri *et al*, 1996).

Pakan yang tercemar aflatoksin akan merugikan peternak, karena akan terjadi peracunan aflatoksin pada ternak yang mengkonsumsinya, sedangkan residu aflatoksin pada produk ternak akan membahayakan manusia yang mengkonsumsinya (Ginting, 1983; Bahri *et al*, 1994).

Berbagai metode pengujian untuk mendeteksi cemaran aflatoksin di dalam pakan atau bahan pakan diantaranya yaitu metode dengan menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC) dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Lee, 2003) Tetapi metode ini memiliki kelemahan karena harga instrument yang cukup mahal, sehingga biaya analisa juga akan mahal. Selain itu diperlukan pelaksana yang betul-betul terlatih, dan metode ini tidak dapat dipergunakan di lapangan serta metode ini memerlukan waktu 2 sampai 3 hari untuk mendapatkan hasil pengujian.

Agar kadar aflatoksin tetap dalam batas-batas yang masih dapat ditolerir serta aman diberikan pada ternak maka diperlukan suatu pengujian sebagai kontrol untuk mendeteksi secara cepat, sensitif dan spesifik serta biaya yang murah terhadap kualitas pakan, bahan bakunya seperti jagung dan produk hewan di wilayah kerja

Balai Besar Veteriner Maros dengan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*.

MATERI DAN METODE

Material pengujian berupa pakan jadi ungu sebanyak 23 sampel, jagung 7 sampel dan produk hewan berupa hati sapi 11 sampel yang diperoleh dari kiriman pelanggan dan diperoleh dari lapangan di Wilayah Kerja Balai Besar Veteriner Maros untuk dilakukan pengujian terhadap residu aflatoksin B1. Analisis dilakukan dengan menggunakan ELISA kit yang dikembangkan oleh Balai Penelitian Veteriner Bogor.

Bahan yang digunakan berupa mikrotiter sudah dilapisi antibody (*coated antibody*), mikrotiter untuk pencampuran, standar aflatoksin 30 ppb ; 10 ppb; 3,3 ppb; 1,1 ppb; 0,37 ppb ; dan 0,12 ppb, konjugat aflatoksin peroksidase (AF B1 HRPO), larutan substrat A dan B, larutan H₂SO₄ sebagai *stop solution*. Metanol 60 %, sentrifuse, kertas saring Whatman 41, tabung sentrifuse, erlemeyer 125 ml, 250 ml, corong, timbangan, multichannel, single pippett, tip, homogenizer, bak cuci untuk buangan, shaker, timer, aquadest dan *ELISA reader*.

PRINSIP ANALISA

Prinsip analisis ini dengan menggunakan format ELISA kompetitif langsung (*direct competitive ELISA*). Aflatoksin B1 (AF B1) dapat terdeteksi serendah 0,12 ppb (0,1 ng/ml) dalam ekstrak sample.

Antibodi dilapisi pada plat mikro, sampel diekstraksi dengan methanol 60 %, sedangkan enzim konjugat (AF B1 HRPO) sebelumnya dicampurkan dulu pada plat pencampuran dengan larutan standar AF B1 atau ekstrak sampel. Campuran ini

kemudian dimasukkan ke dalam plate mikro yang sudah dilapis antibody. Pada plat mikro ini terjadi kompetisi langsung antara AF B1 standar atau AF B1 yang terkandung dalam sampel dengan enzim konjugat untuk berikatan dengan antibody yang terlapis pada plat mikro. Selanjutnya enzim konjugat yang tidak berikatan dengan antibody dicuci dengan air yang mengandung detergen dan enzim yang mengikat antibody pada plat mikro dengan penambahan substrat akan memberikan warna. Semakin tinggi AF B1 pada standar atau sampel, maka makin sedikit enzim konjugat yang berikatan dengan antibody, maka warna yang terbentuk makin pudar. Reaksi dihentikan dengan penambahan stopping solution dan intensitas warna yang terbentuk diukur dengan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm.

Pembacaan mikroplate pada ELISA reader diperoleh nilai serapan warna (*Optical Density-OD* atau *absorban -A*) untuk masing-masing sumur (blank standar, standar, dan sampel). Selanjutnya dihitung nilai persen inhibisinya untuk masing-masing standard dan sampel dengan menggunakan program *excell*. Plot % inhibisi standar versus log konsentrasi AF B1 untuk mendapatkan kurva kalibrasi standar. Kurva kalibrasi digunakan untuk menghitung konsentrasi AF B1 pada sampel.

Jika % Inhibisi sampel yang diperoleh > dari % Inhibisi konsentrasi standar 30 ppb, berarti sampel mengandung AF B1 > 30 ppb, maka untuk mendapatkan nilai konsentrasi yang pasti, ekstrak sampel perlu diencerkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil analisa diperoleh kadar aflatoksin B1 pada sample pakan jadi untuk unggas bervariasi antara 1,7 – 282, 7 ppb, jagung 3,5 – 192, 6 ppb dan hati sapi antara 1,3 – 6,7 ppb (Tabel 1)

Tabel 1. Rata-rata kandungan Aflatoksin B1 pada pakan, jagung dan hati sapi

Sampel		Konsentrasi (ppb)
Pakan	1	133,3
	2	204,6
	3	197,8
	4	94,1
	5	157,6
	6	137,5
	7	188,9
	8	196,0
	9	282,7
	10	192,1
	11	247,8
	12	227,8
	13	266,3
	14	83,1
	15	51,5
	16	167,7
	17	63,5
	18	144,4
	19	158,9
	20	67,0
	21	1,7
	22	186,9
	23	28,1
Jagung	1	192,6
	2	93,7
	3	10,4
	4	3,5
	5	28,4
	6	9,3
Hati sapi	7	37,4
	1	27,2
	2	39,0
	3	67,0
	4	5,2
	5	3,3
	6	1,3
	7	4,8
	8	12,2
	9	10,0
	10	2,5
11	3,0	

Menurut Standar Nasional Indonesia tentang nilai batas maksimum residu aflatoksin, maka dari hasil analisa terdapat 21 sampel (91,3%) pakan jadi untuk unggas, jagung 2 sampel (28,7%) mengandung aflatoksin melebihi batas maksimum residu (50 ppb) dan pada hati sapi terdapat 3 sampel (27,3%) yang mempunyai konsentrasi lebih

besar dari BMR (20 ppb). Kualitas pakan untuk ternak ditentukan oleh bahan dasarnya seperti jagung, bungkil kedelai dan lain-lain.

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Ginting (1984) dan Widiastuti *et al* (1988) disebutkan bahwa lebih dari 80 % pakan ayam komersial di daerah Bogor, Jakarta, Bandung dan Pontianak tercemar aflatoksin B1 dengan kadar bervariasi antara 10,1 sampai dengan 54,4 ppb. Demikian juga yang telah dilakukan dalam pengujian ini, di mana seluruh sampel pakan unggas dan jagung mengandung residu aflatoksin.

Pada penelitian Maryam, *et al.* (1993) menunjukkan bahwa terdapat residu AF M1 pada susu sapi. Terdeteksinya AF M1 pada susu sapi tersebut diduga erat kaitannya dengan cemaran AF B1 pada pakan konsentrat dan bekatul pada pakan sapi tersebut. Keberadaan AF B1 dan metabolitnya juga dapat dideteksi pada organ hati ayam broiler yang diambil di daerah Jawa Barat. (Bahri, *et al* 1994). Dalam penelitian tersebut disebutkan bahwa AF M1 relatif tinggi dan AF B1 terdeteksi walaupun kadarnya sangat rendah. Keadaan ini dianggap wajar karena sebagian AF B1 di dalam tubuh telah dimetabolisir antara lain menjadi AF M1 dan Ro. Pada sampel hati sapi dari pengujian ini juga menunjukkan bahwa semua sampel hati mengandung residu aflatoksin dan terdapat 3 sampel yang melebihi batas maksimum residu aflatoksin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hal tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa pakan unggas, jagung dan hati sapi yang beredar di beberapa daerah wilayah kerja Balai Besar Veteriner Maros mengandung residu aflatoksin. sehingga diperlukan langkah-langkah untuk meningkatkan kualitas mutu pakan, bahan dasarnya seperti jagung dan produk hewan dalam hal ini hati sapi sesuai yang diinginkan.

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Kepala Balai Besar Veteriner Maros, Staf Dokter Hewan dan segenap staf teknis di Laboratorium Kesmavet dan Toksikologi Balai Besar Veteriner Maros yang telah membantu dalam pelaksanaan kegiatan pengembangan metode ini .

DAFTAR PUSTAKA

- Bahri, Syamsul *et al.*, 1996. Afaltosksikosis dan Cemaran Afaltoksin pada Pakan Serta Produk Ternak. Balai Penelitian Veteriner. Bogor
- Kennedy, Ivan. R. 2003. On Overview of Aflatoksin Contamination in Food and Feed Risk Assessment and Management. Agricultural and Environmental Chemistry, Faculty of Agriculture, Food and Natural Resources, University of Sydney.
- Lee, N. Alice. 2003. *Sampling Strategies for Aflatoxin Analysis*. Faculty of Agriculture, Food and Natural Resources, University of Sydney.
- Murdiati, Tri Budhi. 2003. Enzym Linked Immunosorbent Assays (ELISA) untuk Kontaminan dan Cemaran. Balai Penelitian Veteriner. Bogor
- Rachmawati, Sri. 2003 Afaltoksim dan Pengembangan ELISA kit. Balai Penelitian Veteriner. Bogor.
- Supritianto, Herdi. 1998. Penggunaan Sambiloto (*Andrographis Paniculata Nees*) Untuk Mencegah Afaltoksikosis pada Itik. Jurusan Kimia Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Yusrini, Heny. 2005. Teknik Analisis Kandungan Afaltoksin B1 secara ELISA pada Pakan Ternak dan Bahan Dasarnya. Buletin Teknik Pertanian Vol 10, Nomor 1. Jakarta