

636.09(910)  
SEM  
P<sub>2</sub>

# PROSIDING

# SEMINAR NASIONAL PETERNAKAN DAN VETERINER

CISARUA, BOGOR, 7-8 NOPEMBER 1995

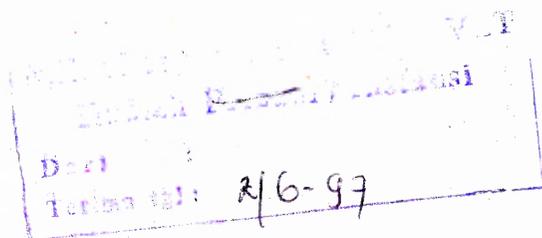
## JILID 2

**Penyunting:** Sukardi Hastiono  
Budi Haryanto  
Arnold P. Sinurat  
I-Ketut Utama  
Tjeppey D. Soedjana  
Subandriyo  
Purnomo Ronohardjo  
Sutijono Partoutomo  
Sjamsul Bahri  
Suprodjo Hardjoutomo  
Supar

**Redaksi Pelaksana:** Yusuf Halim  
Aip Syarifuddin  
Hadi Budiman



**PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PETERNAKAN  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN  
DEPARTEMEN PERTANIAN  
BOGOR, 1996**



# MIKOTOKSIN DAN KAPANG PENCEMAR PADA PAKAN TERNAK ASAL LIMBAH PERTANIAN DAN AGROINDUSTRI

R. WIDIASTUTI, D. GHOLIB dan R. MARYAM

*Balai Penelitian Veteriner  
Jl. R.F. Martadinata 30, PO Box 52, Bogor 16114*

## RINGKASAN

Penelitian ini dilakukan guna mengetahui jenis dan tingkat kandungan mikotoksin dalam sampel limbah pertanian dan agroindustri yang digunakan untuk pakan ternak. Dalam penelitian ini juga dilakukan identifikasi jenis kapang yang mencemari sampel-sampel tersebut. Hasil analisis mikotoksin menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) terhadap 15 jenis sampel menunjukkan bahwa aflatoksin, khususnya aflatoksin B<sub>1</sub> dan aflatoksin G<sub>1</sub>, mencemari sampel-sampel tersebut dengan kandungan total aflatoksin terbanyak berkisar antara 0,5-20 dan 21-50 ppb. Sementara itu, hasil identifikasi kapang menunjukkan bahwa sampel-sampel yang tercemar aflatoksin juga tercemar *Aspergillus flavus* dan/atau *A. parasiticus*.

**Kata kunci:** limbah pertanian dan agroindustri, pakan, mikotoksin, kapang

## PENDAHULUAN

Limbah pertanian dan agroindustri berupa sisa tanaman jagung, jerami, dedak, berbagai jenis ampas, onggok, berbagai jenis bungkil, kulit biji coklat, dan lain-lain, banyak dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Penggunaan limbah pertanian dan agroindustri ini cukup menguntungkan, karena selain mudah didapat dengan harga relatif rendah, limbah-limbah tersebut masih memiliki nilai nutrisi yang cukup tinggi. Namun, efek negatif akibat adanya kontaminasi mikotoksin terhadap ternak di Indonesia belum diketahui secara pasti, mengingat bahwa komoditas pertanian tersebut sangat mudah rusak dan dapat ditumbuhi oleh kapang. Adanya mikotoksin selain akan mempengaruhi kesehatan ternak juga dapat menimbulkan residu mikotoksin pada produk peternakan, antara lain telur dan susu (MARYAM *et al.*, 1993a; MARYAM *et al.*, 1993b).

Penelitian lapang terhadap kacang-kacangan dan hasil olahannya di Indonesia menunjukkan adanya kontaminasi aflatoksin (RUDJITO *et al.*, 1972; MUHILAL, 1984). BAHRI *et al.* (1989) mende-teksi adanya deoksinivalenol dan zearalenon pada akar, batang, daun, dan tongkol jagung yang ditumbuhi *Fusarium* sp. Adanya kasus kematian domba akibat pemberian konsentrat dengan polar sebagai campuran yang terkontaminasi deoksinivalenol juga pernah dilaporkan (BAHRI *et al.*, 1990).

Berdasarkan pertimbangan di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemungkinan adanya kontaminasi mikotoksin (aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, dan G<sub>2</sub>, serta mikotoksin zearalenon, nivalenol, dan deoksinivalenol) pada limbah pertanian dan agroindustri yang dimanfaatkan sebagai pakan ternak, khususnya di Jawa Barat. Dalam penelitian ini juga dilakukan identifikasi kapang yang mencemari sampel-sampel tersebut, sehingga dapat dilihat apakah pada sampel yang tercemar mikotoksin juga dapat ditemukan kapang penghasil mikotoksin yang bersangkutan (kapang toksigenik).

## MATERI DAN METODE

### Pengumpulan sampel

Sampel berupa limbah pertanian dan agroindustri dikumpulkan dari peternakan rakyat yang memelihara sapi dan/atau kambing serta Koperasi Perusahaan Susu (KPS) yang menyediakan pakan ternak sapi di 5 kabupaten di Jawa Barat pada tahun 1994. Sampel berupa limbah tanaman disimpan pada suhu 5° C dan secepat mungkin diekstraksi untuk mencegah kerusakan dan pertumbuhan kapang lebih lanjut, sedangkan sampel bukan limbah tanaman disimpan pada suhu -20° C terlebih dahulu sebelum dianalisis.

### Analisis mikotoksin

Sampel diekstraksi dengan pelarut organik (BLANEY *et al.*, 1984), kemudian diinjeksikan ke alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) menggunakan kolom u-Bondapak C<sub>18</sub>, dan hasil kromatogram yang diperoleh dibandingkan dengan standar mikotoksin. Sejumlah kecil ekstrak terakhir dengan campuran asam trifluoroasetat, dengan menggunakan fasa gerak campuran metanol, asam asetat dan akuabides (15:20:65). Sebagian ekstrak aflatoksin diperiksa untuk mikotoksin zearalenon, nivalenol dan deoksinivalenol secara langsung dengan menggunakan fasa gerak campuran metanol dan akuabides (30:70) dan dideteksi dengan detektor UV (panjang gelombang 224 nm) (BLANEY *et al.*, 1986).

### Identifikasi kapang

Identifikasi kapang dilakukan menurut metode THOMPSON (1969), tiap jenis sampel dihaluskan atau dipotong-potong hingga  $\pm 1$  mm untuk sampel limbah tanaman dilarutkan dalam aquades steril dan diencerkan 10 kali. Setelah itu dilakukan pembiakan pada medium agar glukosa Sabouraud yang ditambah dengan 0,25% khloramfenikol dengan perbandingan volume 5:1, untuk membunuh bakteri atau organisme lain. Sampel yang dibiakkan adalah sampel yang telah diencerkan antara  $10^{-3}$  hingga  $10^{-6}$ . Inkubasi dilakukan selama 2 atau 3 hari pada suhu kamar dan suhu 37° C. Identifikasi kapang dilakukan berdasarkan sifat-sifat makroskopik koloni yang tumbuh dan mikroskopik dengan pewarnaan *lactophenol cotton blue* (HAZEN dan REED, 1960; ELLIS, 1971; dan RAPER dan FENNELL, 1973).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil analisis mikotoksin

Mikotoksin (aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, dan G<sub>2</sub>, serta mikotoksin zearalenon, nivalenol, dan deoksinivalenol) ditemukan pada 16 jenis sampel limbah pertanian dan agroindustri dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aflatoksin B<sub>1</sub> mencemari 12 jenis sampel (kecuali ampas tempe, ampas kecap, ongkok, dan bungkil kelapa sawit), dan aflatoksin B<sub>2</sub> hanya ditemukan pada 1 sampel polar, sedangkan mikotoksin zearalenon, nivalenol, dan deoksinivalenol tidak terdeteksi. Dalam hal ini, diketahui bahwa mikotoksin yang paling dominan adalah aflatoksin B<sub>1</sub> dibandingkan dengan ketiga jenis aflatoksin yang lain, sedangkan yang berikutnya adalah aflatoksin G<sub>1</sub> dan G<sub>2</sub>. Kenyataan ini mendukung temuan sebelumnya (BAINTON *et al.*, (1980) bahwa aflatoksin B<sub>1</sub> merupakan aflatoksin yang paling sering dijumpai di alam dan bersifat paling toksik.

**Tabel 1.** Jenis sampel dan mikotoksin yang terdeteksi pada sampel limbah pertanian dan agroindustri

Jenis sampel (*)	Konsentrasi (ppb) pada sampel positif				Rataan total aflatoksin(*)	Jumlah sampel dengan kons. total aflatoksin			Mikotoksin lain (Zea, Don, Niv)
	AFB1(*)	Aflatoksin AFB2(*)	AFG1(*)	AFG2(*)		0,5-20 ppb	21-50 ppb	>51 ppb	
Bekatul (7)	0,4-44,0 (7)	TT	4,4-49,6 (6)	TT	39,7 (7)	6	1	-	TT
Sisa tanaman jagung (12)	0,6-12,5(9)	TT	0,9-75,6(7)	0,2-10,0(2)	20,0(9)	7	2	1	TT
Jerami (3)	1,7-23,2(3)	TT	23,7(1)	2,2(1)	21,2(3)	1	2	-	TT
Ampas tahu (9)	0,6-4,5(3)	TT	1,2(1)	0,5(1)	5,8(4)	4	-	-	TT
Ampas tempe(2)	TT	TT	TT	TT	TT	-	-	-	TT
Polar (2)	7,0-372,0(2)	90(1)	135,5 (1)	TT	301,8(2)	1	-	1	TT
Kulir biji coklat(2)	15,0-24,1(2)	TT	40,6-42,2(2)	6,7-27,0(2)	77,8(2)	-	-	2	TT
Bungkil kelapa (2)	3,4-4,3(2)	TT	9,8-22,6(2)	TT	20,0(2)	1	1	-	TT
Ampas tebu (1)	13,8(1)	TT	TT	TT	13,8(1)	1	-	-	TT
Batang dan daun tebu(1)	37,2(1)	TT	TT	TT	37,2(1)	-	1	-	TT
Kulit kacang kedelai (1)	11,2(1)	TT	TT	2,0(1)	13,2(1)	1	-	-	TT
Ampas bir(1)	26,5(1)	TT	TT	TT	26,4(1)	-	1	-	TT
Ampas kecap(1)	TT	TT	TT	TT	TT	-	-	-	TT
Kulit kacang merah(1)	TT	TT	TT	TT	9,9(1)	1	-	-	TT
Onggok(1)	TT	TT	61,6(1)	TT	61,6(1)	-	-	1	TT

**Keterangan:**

- \* : Jumlah sampel
- TT : Tidak terdeteksi
- Zea : Zearalenon
- Niv : Nivalenol
- Don : Deoksinivalenol

Kisaran konsentrasi sampel positif dan konsentrasi rata-rata total aflatoksin untuk semua jenis sampel masih relatif rendah (di bawah 100 ppb), kecuali untuk sampel polar yang mencapai 301,8 ppb. Kisaran konsentrasi total aflatoksin yang mendominasi dalam mencemari sampel-sampel tersebut adalah 0,5-20 ppb, sedangkan yang berikutnya adalah 21-50 ppb. Oleh karena sampel yang dianalisis masih segar tanpa penyimpanan dan diperoleh dalam musim kemarau yang kelembaban udaranya pada saat itu relatif rendah. Bila pengumpulan sampel dilakukan pada musim penghujan kemungkinan hasilnya akan berbeda. Konsentrasi rata-rata total aflatoksin tertinggi pada sampel polar mungkin diimpor dari negara beriklim dingin dan telah lama disimpan.

Hasil analisis terhadap aflatoksin menunjukkan bahwa limbah pertanian tersebut masih aman bila dipakai sebagai pakan ternak, mengingat bahwa kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> yang ditemukan masih di bawah ambang batas yang diijinkan, yaitu 300-600 ppb untuk pakan sapi, dan 1750 ppb untuk pakan kambing (CULVENOR, 1974). Ambang batas aflatoksin B<sub>1</sub> yang dapat menimbulkan residu aflatoksin M<sub>1</sub> pada susu sapi adalah 500 ppb (ALLCROFT dan ROBERTS, 1968; POLAN *et al.*, 1974).

**Hubungan antara aflatoksin yang terdeteksi dan kapang yang diisolasi**

Karena jenis mikotoksin yang terdeteksi hanya aflatoksin, maka identifikasi kapang yang dilakukan hanya diarahkan kepada *A. flavus* dan *A. parasiticus* kedua spesies kapang tersebut diketahui sebagai penghasil aflatoksin pada sampel baik yang positif tercemar maupun yang tidak tercemar oleh aflatoksin, sehingga akan diketahui apakah ada korelasi antara kedua temuan tersebut, meskipun identifikasi jenis kapang lainnya juga dilakukan. Hasil isolasi kedua spesies kapang tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil indentifikasi kapang *A. flavus* dan *A. parasiticus* pada sampel yang tercemar aflatoksin

Jenis sampel (*)	Total aflatoksin, ppb (*)	Isolasi dan indentifikasi	
		<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>
Sisa tanaman jagung	13,76-48,6(3)	+	-
	12,54(1)	-	+
	3,2-80,2(7)	-	-
Bekatul (&)	16,9-93,6(3)	+	-
	44,1-46,9(2)	+	+
	4,75-13,7(2)	-	-
Jerami (3)	23,2(1)	+	-
Ampas tahu (9)	0,5(1)	+	+
	TT(1)	+	-
Kulit biji coklat(2)	71,5(1)	+	-
Ampas tempe (2)	TT(2)	+	-
Onggok (1)	61,6 (1)	+	-
Bungkil kelapa sawit (1)	TT (1)	-	-
Polar (2)	6,55-597,5(2)	-	-
Ampas tebu (1)	13,8(1)	-	-
Daun tebu (1)	37,2(1)	-	-
Kulit kacang kedelai (1)	13,2 (1)	-	-
Ampas bir (1)	26,4(1)	-	-
Bungkil kelapa (2)	14,1-26,96(2)	-	-
Kulit kacang merah (1)	9,9 (1)	-	-

**Keterangan :**

- \* : Jumlah sampel
- TT : Tidak terdeteksi
- +
- : Tidak dapat diisolasi

Hasil tersebut menggambarkan bahwa pada sampel yang tercemar aflatoksin juga tercemar oleh *A. flavus* dan/atau *A. parasiticus*. Namun, tidak semua sampel yang tercemar aflatoksin tidak selalu dapat diisolasi kapang *A. flavus* dan/atau *A. parasiticus* atau sebaliknya, temuan ini serupa dengan yang diteliti oleh CONNOLE *et al.* (1981), bahwa kapang penghasil toksin tidak otomatis menghasilkan toksin pada semua jenis limbah pertanian. Hal ini terbukti dari 7 sampel sisa tanaman jagung, 2 sampel bekatul, 2 sampel polar, 2 sampel bungkil kelapa, dan masing-masing 1 sampel ampas tebu, daun tebu, kulit kacang kedelai, ampas bir, dan kulit kacang merah yang positif tercemar aflatoksin, tidak satupun dapat diisolasi *A. flavus* dan *A. parasiticus*. Ada kemungkinan bahwa aflatoksin dihasilkan bukan oleh kapang *A. flavus* dan *A. parasiticus*, kemungkinan cendawan *A. flavus* maupun *A. parasiticus* pernah tumbuh dan menghasilkan aflatoksin, namun pada saat dilakukan isolasi keduanya sudah tidak ada (mati) sehingga hanya aflatoksin yang terdeteksi. Sebaliknya, pada 1 sampel ampas tempe dan ampas tahu, *A. flavus* dapat namun aflatoksin tidak dapat diisolasi, terdeteksi. Ada kemungkinan bahwa *A. flavus* yang mencemari sampel-sampel tersebut bukan galur penghasil aflatoksin, atau oleh karena berbagai faktor *A. flavus* tersebut belum menghasilkan aflatoksin. BULLERMAN (1981) menyatakan bahwa timbulnya mikotoksin tidak selalu ada kaitannya dengan toksisitas biakan kapang, tetapi memungkinkan terbentuknya toksin lain. Dalam penelitian ini didapatkan bahwa *A. flavus* merupakan kapang yang dominan dalam menghasilkan aflatoksin dibandingkan dengan *A. parasiticus*, serupa dengan yang telah dilaporkan oleh DONNER *et al.* (1984).

Selain *A. flavus* dan *A. parasiticus*, dapat diisolasi *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. candidus* dan *A. oryzae* spesies kapang tersebut mungkin juga berperan dalam menghasilkan aflatoksin atau produk metabolit lain.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Mikotoksin yang dominan mencemari sampel bahan pakan asal limbah pertanian dan agroindustri adalah aflatoksin, khususnya aflatoksin B<sub>1</sub> dan aflatoksin G<sub>1</sub>, dengan kandungan total masih di bawah nilai ambang batas yang diijinkan untuk dikonsumsi. Sampel tercemar aflatoksin itu sebagian besar positif adanya kapang *A. flavus* dan/atau *A. parasiticus*. Limbah pertanian dan agroindustri ini apabila digunakan sebagai pakan hendaknya diberikan sesegera mungkin untuk menghindari timbulnya kapang, terbentuknya toksin dan pengaruh lain lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

- ALLCROFT, R., and B.A. ROBERTS. 1968. Toxic groundnut meal: The relationship between aflatoxin B<sub>1</sub> intake by cows and excretion of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk. *Vet. Rec.* 82: 116-118.
- BAINTON, S.J., R.D. COLER, B.D. JONES, E.M. MORLEY, M.J. NAGLER and R.L. TURNER. 1980. *Mycotoxin Training Manual Tropical Product*. Institute, London, p: 20-65.
- BAHRI, S., E. TARIGAN, R. MARYAM, dan NG. GINTING. 1989. Kandungan mikotoksin *Fusarium* secara alami pada akar, batang dan daun tanaman jagung. Prosiding Kongres Nasional X dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. 160-164.
- BAHRI, S., B. TIESNAMURTI, dan R. MARYAM. 1990. Kasus kematian domba akibat pemberian konsentrat yang tercemar deoksinivalenol. *Media Kedokteran Hewan*. 1: 1-8.
- BLANEY, B.J., C.J. MOORE, and A.L. TYLER. 1984. Mycotoxins and fungal damage in maize harvested during 1982 in Far North Queensland. *Aust. J. Agric. Res.* 35: 465-471.
- BLANEY, B. J., M.D. RAMSEY, and A.L. TYLER. 1986. Mycotoxins and toxigenic fungal in insect-damaged maize harvested during 1983 in Far North Queensland. *Aust. J. Agric. Res.* 37: 235-244.
- BULLERMAN, L.B. 1981. Public health significance of molds and mycotoxins in fermented dairy products. *J. Dairy Sci.* 64: 2439-2452.
- CONNOLLE, M.D., B.J. BLANEY, and T. McEWAN. 1981. Mycotoxins in animal feeds and toxic fungi in Queensland 1971-80. *Aust. Vet. J.* 57: 314-318.
- CULVENOR, C.C.J. 1974. The hazard from toxic fungi in Australia. *Aust. Vet. J.* 50: 69-78.
- DONNER, J.W., R.J. COLE, and U.L. DIENER. 1984. The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia*. 87: 13-15.
- ELLIS, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- HAZEN, E.L. and F.C. REED. 1960. *Laboratory Identification of Pathogenic Fungi Simplified*. 2nd ed. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, USA.
- MARYAM, R., S. BAHRI, P. ZAHARI, YULIASTUTI, and J. MULYANA. 1993a. Residu aflatoksin dalam telur ayam ras. Laporan Intern Balitvet (tidak dipublikasi).
- MARYAM, R., S. BAHRI, P. ZAHARI, Y. SANI dan YULIASTUTI. 1993b. Residu aflatoksin M<sub>1</sub> pada susu asal Jawa Tengah. Laporan Intern Balitvet (tidak dipublikasi).
- MARYAM, R., INDRANINGSIH, YUNINGSIH, T. TARMIDI, dan I. NOOR. 1994. Penelitian senyawa toksik dan bahan kimia pada pakan ternak asal limbah pertanian dan agroindustri. Laporan Intern Balitvet (tidak dipublikasi).
- MUHILAL. 1984. Kandungan aflatoksin hasil oleh kacang-kacangan, berbagai bahan makanan yang keadaan fisiknya rusak dan jamu. *Gizi Indonesia*. 9 (1): 26-28.

- POLAN, A.E., J.R. HAYES, and T.C. CAMPBELL. 1974. Consumption and fate of aflatoxin B<sub>1</sub> by lactating cows. *J. Agric. Food Chem.* 22: 635-638.
- RAPER, K.B., and D.I. FENNELL. 1973. *The Genus Aspergillus*. Robert Frieger Publishing Coy., Huntington, New York.
- RUDIJO, D., MUHILAL, S.P. HARLINAH, WIROHUSODO, dan D. KARYADI. 1972. Aflatoksin dalam kacang tanah, minyak, bungkil dan oncom. *Penelitian Gizi dan Makanan*. 2: 80-87.
- THOMPSON J.C. 1969. Techniques for the isolation of the common pathogenic fungi. *Medium* (3, 4). Maff, CVL, Weybridge, England.