

---

---

# DETEKSI AFLATOKSIN B1 DALAM BAHAN PAKAN DAN PAKAN SECARA *ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY*

## *Aflatoxin B1 Detection in Feed Materials and Feeds by Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

Prima Mei Widiyanti

Balai Besar Penelitian Veteriner, Kementerian Pertanian  
Jl. RE Martadinata No. 30 Bogor  
E-mail: primamw@gmail.com

### Abstrak

Indonesia sebagai negara tropis rentan terkontaminasi mikotoksin (aflatoksin, okratoksin, fumonisin, trikotesen, deoksinivalenol dan zearalenon) pada pangan dan pakan. Aflatoksin merupakan mikotoksin yang bersifat toksik dan berbahaya bagi kesehatan. Deteksi adanya kontaminasi aflatoksin dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain *thin layer chromatography* (TLC), *high performance liquid chromatography* (HPLC), *liquid chromatography mass spectroscopy* (LCMS), *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), dan imunosensor. ELISA merupakan metode yang memiliki kelebihan dibandingkan metode lainnya, karena dapat mendeteksi dengan cepat, mudah, ekonomis, spesifik dan sensitif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi adanya kontaminasi aflatoksin B1 (AFB1) pada bahan pakan dan pakan ternak secara ELISA. Tingkat kontaminasi AFB1 sebesar 36% dari 50 total sampel. Hasil analisa kadar AFB1 tertinggi terjadi pada jagung dengan kadar 40 ppb. Kadar AFB1 hasilnya pada semua sampel masih di bawah batas regulasi Standar Nasional Indonesia (50 ppb).

**Kata kunci** : aflatoksin, ELISA, pakan, Standar Nasional Indonesia (SNI).

### Abstract

*Indonesia as a tropical country has highly vulnerable to contamination of mycotoxins (aflatoxins, ochratoxin, fumonisin, trichotecene, deoxynivalenol and zearalenon) in food and feed. Aflatoxin is the most toxic mycotoxin and dangerous for health. There are several methods to detect aflatoxin contamination, including thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography mass spectroscopy (LCMS), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and immunosensors. ELISA is a method that has more advantages than other methods, because it can detect samples quickly, easily, economically, specifically and sensitively. The purpose of this study was to detect the presence of aflatoxin B1 contamination (AFB1) in feed ingredients and animal feed by ELISA. Results of AFB1 contamination were 36% from 50 samples. The results of the analysis of AFB1 contamination was highest in maize with 40 ppb. The levels of aflatoxins in samples were under of SNI regulations (50 ppb).*

**Keywords:** *aflatoxin B1, ELISA, feed, Standar Nasional Indonesia (SNI).*

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan iklim tropis yang memiliki beragam flora dan fauna serta sebagai salah satu negara besar di dunia dengan berbagai biodiversiti (De Jong et al., 2018). Negara tropis dengan suhu, curah hujan dan kelembaban yang tinggi, sangat kondusif untuk berkembangbiaknya kapang pada berbagai komoditas pertanian. Komoditas pertanian yang rusak dan mempunyai kadar air yang tinggi sangat mudah tercemar kapang penghasil mikotoksin (Lattanzio et al., 2007; Negash, 2018). Mikotoksin merupakan hasil metabolit sekunder dari kapang toksigenik genus *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Fusarium*. Jenis mikotoksin antara lain aflatoksin, okratoksin, fumonisin, trikotesen, deoksinivalenol dan

zearalenon. Berdasarkan penelitian Tangendjaya et al. (2008), Indonesia sebagai negara tropis sangat rentan terkontaminasi mikotoksin (aflatoksin, okratoksin, fumonisin, deoksinivalenol, trikotesena/toksin T2 dan zearalenon) pada bahan pakan.

Aflatoksin merupakan mikotoksin yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan, antara lain penurunan nafsu makan, berat badan, pertumbuhan, produksi telur, dan kekebalan tubuh (Zain, 2010). Aflatoksin B1 (AFB1) paling toksik dan berbahaya bagi kesehatan dibandingkan aflatoksin yang lainnya. Aflatoksikosis atau penyakit yang disebabkan oleh aflatoksin, dapat terjadi secara akut dan kronis. Menurut *International agency for Research on Cancer* (IARC), AFB1

diklasifikasikan sebagai karsinogen yang masuk dalam grup 1 (Marchese et al., 2018).

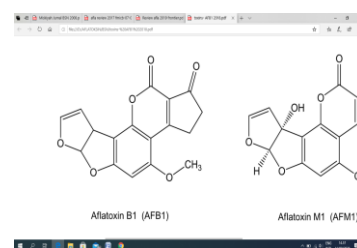
Aflatoksin selain dapat membahayakan kesehatan hewan dan manusia juga dapat menurunkan kualitas produk yang terkontaminasi, sehingga mempengaruhi perekonomian dan perdagangan (Martindah & Bahri, 2016; Arapcheska et al., 2015). Aflatoksin dapat menyebabkan kerugian karena dapat menyebabkan kerusakan pada lebih dari 25% tanaman pangan di dunia (WHO, 2018).

Aflatoksin dapat dideteksi secara kuantitatif dengan beberapa metode, antara lain dengan metode *thin layer chromatography* (TLC), *high performance liquid chromatography* (HPLC), *liquid chromatography mass spectroscopy* (LCMS), *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), dan imunosensor (Wacoo et al., 2014; Mahato et al., 2019). Berdasarkan hasil pengujian menggunakan metode ELISA dan HPLC di Yordania untuk mendeteksi AFB1 pada bahan pakan dan pakan hasilnya hampir sama, namun analisis menggunakan ELISA lebih ekonomis, preparasi sampelnya mudah dan cepat dibandingkan HPLC (Alshawabkeh et al., 2015). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat kontaminasi AFB1 pada bahan pakan dan pakan menggunakan metode ELISA, sehingga dapat diketahui apakah kadarnya masih dalam batas regulasi Standar Nasional Indonesia (SNI) serta aman diberikan pada hewan.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Aflatoksin

Aflatoksin ditemukan pada tahun 1960, menyebabkan kematian lebih dari 1000 kalkun di Inggris, sehingga disebut penyakit "*Turkey X disease*". Jenis aflatoksin yang umum ditemukan adalah aflatoksin B1, B2, G1, G2. Aflatoksin B1 (AFB1) merupakan jenis yang paling toksik dan diklasifikasikan sebagai *class I carcinogen* (Negash, 2018). Aflatoksin B dapat berfluoresen dibawah sinar ultraviolet menjadi warna biru (*blue*), sedangkan aflatoksin G berwarna hijau (*green*). Aflatoksin M1 dan M2 merupakan hasil metabolit aflatoksin B1 dan B2 yang dapat ditemukan pada susu. (Arapcheska et al., 2015). Aflatoksin B1 diklasifikasikan sebagai difuranokomarin, memiliki cincin siklopentanon yang berikatan dengan cincin lakton pada struktur komarin (Gambar 1) (Marchese et al., 2018)



Gambar 1 Struktur kimia aflatoksin B1 (AFB1) (Sumber: Marchese et al., 2018)

Aflatoksin B1 merupakan salah satu jenis mikotoksin, hasil metabolit dari kapang genus *Aspergillus*, antara lain *A. flavus*, *A. pseudotamarii*, *A. togoensis*, *A. aflatoxiformans*, *A. austwickii*, *A. cerealis*, *A. arachidicola*, *A. minisclerotigenes*, *A. mottae*, *A. luteovirescens* (*A. bombycis*), *A. nomius*, *A. novoparasiticus*, *A. parasiticus*, *A. pipericola*, *A. pseudocaelatus*, *A. pseudonomius*, and *A. sergii*, *A. transmontanensis*, *A. ochraceoroseus* and *A. rambellii*, *A. stellatus*, *A. miraensis*, *A. olivicola*, dan *A. venezuelensis*. Kapang tersebut tumbuh di daerah tropis dengan temperatur dan kelembaban yang tinggi. Produk pertanian yang dapat terkontaminasi oleh aflatoksin B1 antara lain jagung, kacang-kacangan, gandum, sorgum, beras, kopi, biji kapas, rempah-rempah (lada, jahe, kunyit), dan lainnya (Benkerroum, 2020; WHO, 2018).

### 2.2 Efek Toksisitas Aflatoksin pada Kesehatan Hewan dan Manusia

Efek toksik aflatoksin bervariasi, karena sifat kimia, biologik dan toksikologiknya berbeda-beda. Selain itu toksisitas aflatoksin ditentukan juga oleh dosis atau jumlah mikotoksin yang dikonsumsi, rute dan lamanya pemaparan, spesies, umur, jenis kelamin, status kesehatan dan gizi, serta efek sinergis dari berbagai mikotoksin yang secara bersamaan terdapat pada pangan, pakan, bahan pangan dan bahan pakan (Kolossova et al., 2009; Arapcheska et al., 2015).

Aflatoksin dapat menyebabkan karsinogenik, teratogenik, hepatotoksik, mutagenik dan imunosupresif. Selain itu juga dapat menyebabkan kerusakan hati, kanker, dan penurunan produksi susu pada hewan (Negash, 2018). Aflatoksin juga dapat mengakibatkan pertumbuhan terhambat dan malnutrisi (Rushing & Selim, 2019).

Manusia dapat terpapar aflatoksin apabila mengonsumsi produk hewan atau tanaman yang terkontaminasi aflatoksin. *International agency for Research on Cancer* (IARC) di Lyon-Prancis berdasarkan data epidemiologi dan studi kanker pada hewan percobaan, menyatakan bahwa

aflatoksin (B1, B2, G1, G2, M1) diklasifikasikan sebagai karsinogen yang masuk dalam grup 1 atau dapat menyebabkan kanker pada manusia. Aflatoksin menyebabkan kanker hati dengan mekanisme genotoksik yang melibatkan aktivasi metabolit epoksida genotoksik, pembentukan DNA *adducts* dan modifikasi TP53 (Ostry et al., 2017).

### 3. METODE PENELITIAN

Analisis aflatoksin dalam sampel bahan pakan dan pakan dilakukan dengan menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) yang telah dikembangkan di Balai Besar Penelitian Veteriner (Rachmawati, et al. 2004). Sampel bahan pakan (jagung, dedak) dan pakan dikoleksi dari beberapa daerah di Jawa Barat. Bahan yang diperlukan dalam penelitian meliputi metanol, akuades, 96 lubang mikroplate yang sudah berisi antibodi (*coated antibody plate*), *uncoated* mikroplate, standar aflatoksin, larutan konjugat, larutan substrat (*tetramethylbenzidine/TMB*), dan larutan penghenti reaksi (asam sulfat/ $H_2SO_4$ ).

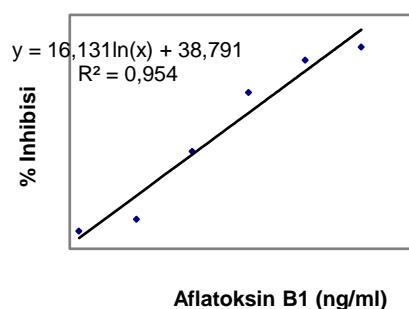
Sampel bahan pakan dan pakan digiling, sebanyak 25 gram sampel ditimbang kemudian diekstrak dengan 100 ml methanol-akuades 60%, dikocok selama 30 menit dengan menggunakan *shaker*, lalu disentrifuse 3.000 rpm selama 15 menit, setelah itu diambil larutan yang jernih (supernatan) untuk dianalisis.

Semua reagen yang akan diuji sebaiknya dikondisikan dengan suhu ruang. Pada *uncoated* mikroplate dimasukkan 140  $\mu$ l konjugat, kemudian ditambahkan 70  $\mu$ l untuk masing-masing lubang standar dengan konsentrasi rendah sampai tertinggi (0 ppb; 0,1 ppb; 0,37; 1,1 ppb; 3,3 ppb; 10 ppb; 30 ppb), metanol (tanpa konjugat) dan sampel. Setelah tercampur sempurna, dipindahkan sebanyak 75  $\mu$ l (*duplo*) ke dalam *coated antibody plate*, lalu diinkubasi selama 30 menit. Kemudian dicuci dengan akuades sebanyak 3 kali, setelah kering dimasukkan substrat 100  $\mu$ l dan diinkubasi selama 15 menit. Setelah itu ditambahkan larutan penghenti sebanyak 50  $\mu$ l, kemudian *Optical density* (OD) dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm. Hasil pembacaan dan konsentrasi aflatoksin dalam sampel dihitung dengan menggunakan persamaan garis yang dihasilkan oleh kurva standar (konsentrasi vs % inhibisi).

### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Deteksi bahan pakan dan pakan secara ELISA merupakan salah satu metode yang cukup efektif untuk mendeteksi adanya cemaran aflatoksin. ELISA merupakan suatu metode imunokimia yang berdasarkan atas reaksi spesifik antara antigen dan antibodi yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dengan menggunakan enzim sebagai indikator. Sebelum melakukan aplikasi metode yang digunakan, sebaiknya metode divalidasi terlebih dahulu. Validasi yang dilakukan dalam analisis aflatoksin B1 secara ELISA telah dilakukan oleh Rachmawati & Munawar (2012) yaitu dengan melakukan linieritas, rpitabilitas, akurasi, dan penetapan limit deteksi (LOD) dengan hasil yang baik (valid).

Setiap akan melakukan pengujian pada sampel, sebaiknya melakukan pengujian linieritas/kalibrasi terhadap standar dengan membuat standar konsentrasi bertingkat kemudian dihitung nilai regresinya. Nilai regresi yang baik adalah mendekati 1 (FDA, 2012). Penentuan linieritas yaitu untuk mengetahui kemampuan suatu metoda dalam memberikan respon linier dari pengukuran seri konsentrasi standar, hal tersebut diperlukan untuk analisis yang bersifat kuantitatif. Untuk mengetahui linieritas dilakukan *plotting* antara konsentrasi versus hasil pembacaan dapat berupa absorbansi, *optical density*, atau konversi dari hasil pengukuran seperti % inhibisi pada analisis secara ELISA. Pada Gambar 2 terlihat linieritas AFB1 dengan nilai R adalah 0,954, sehingga memberikan hasil yang baik.



Gambar 2 Linieritas standar aflatoksin B1 secara ELISA

Hasil analisis kadar kontaminasi AFB1 pada sampel jagung, dedak dan pakan (Tabel 1) dengan menggunakan metode ELISA menunjukkan bahwa tingkat kontaminasi AFB1 sebesar 36% (18 sampel) dari 50 total sampel dengan kisaran konsentrasi Tt-40 ppb. Cemaran AFB1 tertinggi terjadi pada sampel jagung dengan kadar 40 ppb. Konsentrasi AFB1 pada 50 sampel bahan pakan dan pakan unggas masih

dibawah regulasi yang telah ditetapkan Standar Nasional Indonesia (SNI) dengan batas maksimum residu (BMR) 50 ppb, namun 5 dari 50 sampel (10%) melebihi regulasi yang ditetapkan di Uni Eropa, tingkat AFB1 maksimum pada pakan unggas yang dapat ditoleransi adalah 20 ppb (EC 2011; FAO, 2004). Menurut Alshawabkeh et al. (2015), hasil pengujian AFB1 di Yordania pada sampel pakan menggunakan metode ELISA yaitu 3,23-39,41 ppb. Range/kisaran hasil tersebut mendekati dengan hasil penelitian ini.

Konsentrasi AFB1 pada sampel jagung hasilnya lebih tinggi daripada pada pakan, hal tersebut sejalan dengan penelitian Mongkon et al. (2017), bahwa hasil deteksi AFB1 dengan ELISA pada jagung lebih tinggi dibandingkan pada pakan. Berdasarkan penelitian di Iran, pada sampel dedak yang masih baru ditemukan adanya kontaminasi AFB1 rata-rata 5,07 ppb, sedangkan

pada sampel dedak yang sudah lama konsentrasi rata-rata AFB1 lebih tinggi yaitu 6,81 ppb. Faktor penyimpanan dapat mempengaruhi tingkat kontaminasi AFB1 (Zaboli et al., 2010).

Hasil penelitian pada ayam yang diberi pakan dengan kandungan AFB1 25 ppb (dibawah 50 ppb), pada telurnya terdapat residu AFB1 mulai hari ke-10 hingga hari ke-60 perlakuan dengan konsentrasi rata-rata 0,04 ppb. Konsumsi pakan yang mengandung AFB1 secara terus menerus dapat menyebabkan penurunan konsumsi pakan (*feed intake*), penurunan produksi telur dan adanya residu pada telur yang dapat mempengaruhi kesehatan manusia (Aly & Anwer, 2009). Semakin tinggi konsentrasi aflatoxin pada pakan ayam petelur, menyebabkan residu yang semakin tinggi dalam produk ternak (telur, hati, daging, dan lainnya) (Herzallah, 2013).

Tabel 1 Kadar Aflatoksin B1 pada bahan pakan dan pakan di propinsi Jawa Barat

Jenis sampel	Jumlah sampel	Kisaran kadar AFB1 (ppb)	Rata-rata kadar AFB1 (ppb)	Jumlah positif
Jagung	17	Tt - 40	18,36	12
Dedak	7	Tt	-	0
Pakan	26	Tt – 28,7	5,73	6
Total sampel = 50				18

Keterangan: Tt = Tidak terdeteksi

LOD (limit deteksi) AFB1 = 0,3 ppb

Pengendalian kontaminasi AFB1 dapat dilakukan dengan penerapan manajemen yang baik (*good management practices*) saat proses penanaman, pemanenan dan penyimpanan produk pertanian (Grenier & Applegate, 2012). Manajemen pencegahan dan teknologi dekontaminasi untuk mengurangi efek mikotoksin juga perlu dikembangkan, dengan cara fisik (pencucian, pemanasaan, radiasi ultraviolet), pencegahan kontaminasi (penanaman, pemanenan, penyimpanan, dan distribusi), detoksifikasi dalam pakan ternak dengan penambahan feed aditif, dan penambahan bahan pengikat mikotoksin (organik, anorganik atau kombinasi) (Kolossova et al., 2009; Widiyanti & Maryam, 2016). Selain itu, untuk melindungi konsumen atau masyarakat dari kontaminasi AFB1, sebaiknya menerapkan *hazard analysis critical control point* (HACCP) khususnya di bagian produksi dan penyimpanan untuk menjamin keamanan

pangan (*food safety*) dan kesehatan masyarakat (Gil et al., 2016).

## 5. KESIMPULAN

Konsentrasi AFB1 pada bahan pakan dan pakan yang dianalisis masih di bawah batas regulasi SNI (50 ppb), namun aflatoxin akan terakumulasi apabila ternak masih terus mengonsumsi pakan yang terkontaminasi AFB1. Hal tersebut perlu diwaspadai karena dapat menyebabkan residu pada produk hewan, sehingga dapat membahayakan kesehatan hewan dan manusia.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ibu Sri Rachmawati yang telah menginisiasi penelitian ini dan para teknisi laboratorium yang telah membantu dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aly S.A., & Anwer W. (2009). Effect of naturally contaminated feed with aflatoxins on performance of laying hens and the carryover of aflatoxin B1 residues in table eggs. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8(2): 181-186.
- Alshawabkeh K., Alkhalailah N.I., Abdelqader A., Al-Fataftah A.A., & Herzallah S.M. (2015). Occurance of aflatoxin B1 in poultry feed and and feed ingredients in Jordan using ELISA and HPLC. *Am-Euras J Toxicol Sci*. 7(4): 316-320.
- Arapcheska M., Javanovska V., Jankuloski Z., Musliu Z.H., & Uzunov R. (2015). Impact of aflatoxin on animal and human health. *IJSET*. 2(2): 156-161.
- Benkerroum N. (2020). Aflatoxins:producing-molds, structure, health issues and incidence in Southeast Asian and Sub-Saharan African Countries. *Environ Research and Public Health*. 17: 1-40.
- De Jong W., Rusli M., Bhoelan S., Rohde S., Rantam F.A., Noeryoto P.A., Hadi U., Gorp E.C.M., & Goeijenbier M. (2018). Endemic and emerging acute virus ingections in Indonesia: an overview of the past decade and implications for the future. *J Critc Rev in Micr*. 44(4): 487-503.
- [EC] European Commission. 2011. Mycotoxins factsheet. (Diunduh 2020 Oktober 16). Tersedia pada: [https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/Factsheet%20Mycotoxins\\_2.pdf](https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/Factsheet%20Mycotoxins_2.pdf).
- [FAO] Food and Agriculture Organization. (2004). Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. *FAO Food and Nutrition Paper 81*.
- [FDA] Food and Drug Administration. (2012). Guidelines for The Validation and Chemical Methods for The FDA Foods. Department of Health and Human Services. Version 1.0 2/28/2012.
- Grenier B., & Applegate T.J. (2012). Reducing the Impact of Aflatoxins in Livestock and Poultry. (Diunduh 2020 Oktober 16). Tersedia pada: <http://www.ag.purdue.edu/ANSC>.
- Gil L., Ruiz P., Font G., & Manyes L. (2016). An overview of the applications of hazrds analysis and critical control point (HACCP) system to mycotoxins. *Rev Toxicol*. 33: 50-55.
- Herzallah A.M. (2013). Aflatoxin B1 residues in eggs and flesh of laying hens fed aflatoxin B1 contaminated diet. *American Journal of Agricultural and Biological Science*. 8(2):156 – 161.
- Kolossova A., Stroka J., Breidbach A., Kroeger K., Ambrosio M., & Bouten K. (2009). Evaluation of the effect mycotoxin binders in animal feed on the analytical performance of standardised methods for the determination of mycotoxin in feed. *JRC European*. 54375: 1-46.
- Lattanzio U.M.T., Solfrizzo M., Powers S., & Visconti A. (2007). Simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A and Fusarium toxins in maize by liquid chromatography/ tandem mass spectrometry after multitoxin immunoaffinity cleanup. *RCM Wiley Interscience*. 21: 3253-3261.
- Mahato D., Lee K.E., Kamle M., Devi S., Dewangan K.N., Kumar P., & Kang S.G. (2019). Aflatoxins in food and feed: an overview on prevalence, detection and control strategies. *Front Microbiol*. 10: 1-10.
- Marchese S., Polo A., Ariano A., Velotto S., Costantini S., & Severino L. (2018). Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Toxins*. 10(214): 1-19.
- Martindah E., & Bahri S. (2016). Kontaminasi mikotoksin pada rantai makanan. *Wartazoa*. 26(3): 115-124.
- Mongkon W., Konishi Y.S., Chaisri W., & Thaporn W.S. (2017). Aflatoxin B1 Contamination of Dairy Feeds after Storage in Farm Practice in Tropical Environment. *J Biocontrol Science*. 22(1): 41-45.
- Negash D. (2018). A review of aflatoxin: occurrence, prevention, and gaps in both food and feed safety. *J Nutr Health Food Eng*. 8(2): 190-197.
- Ostry V., Malir F., Toman J., & Grosse Y. (2017). Mycotoxins as human carcinogens-the IARC monographs classification. *Mycotoxin Res*. 33: 65-73.
- Rachmawati S., & Munawar H. (2012). Validasi metoda analisis aflatoksin B1 secara enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) pada jagung, pakan dan kacang tanah. Prosiding PPIIS. Edisi Bali. Hal. 97-108.
- Rachmawati S., Lee A., Murdiati T.B., & Kennedy I. (2004). Pengembangan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) teknik untuk analisis aflatoksin B1 pada pakan ternak. Prosiding.

- Seminar Parasitologi dan Toksikologi Veteriner. Kerjasama Balai Penelitian. Rushing B.R., & Selim M.I. (2019). Aflatoxin B1: a review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food Chem Tox.* 124: 81-100.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. (2009a). SNI 3148.3:2009. Pakan konsentrat – Bagian 3: Ayam ras petelur (*Layer concentrate*). Badan Standardisasi Nasional.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. (2009b). SNI 3148.5:2009. Pakan konsentrat – Bagian 5: Ayam ras pedaging (*Broiler concentrate*). Badan Standardisasi Nasional.
- Tangendjaya B., Rachmawati S., & Wina E. (2008). Mycotoxin contamination on corn used by feed mills in Indonesia. *Indon J Agri Sci.* 9(2): 68-76
- Wacoo A.P., Wendi D., Vuzi P.C., & Hawumba J.F.. (2014). Methods for detection of aflatoxins in agricultural food crops. *J Applied Chem.* 1-15.
- [WHO] World Health Organization. (2018). Aflatoxins. (Diunduh 2020 September 1). Tersedia pada: [https://www.who.int/foodsafety/FSDigest\\_Aflatoxins\\_EN.pdf](https://www.who.int/foodsafety/FSDigest_Aflatoxins_EN.pdf).
- Widiyanti P.M., & Maryam R. (2016). Pemanfaatan bahan pengikat mikotoksin untuk menanggulangi kontaminasinya dalam pakan. *Wartazoa.* 26(2): 91-101.
- Zaboli F., Khosravi A.R., Gholampourazizi I., Norouzi M., & Erfanmanesh A. (2010). A study of aflatoxins production in rice bran from Mazandran province, Northern Iran. *Global Vet.* 5(1): 39-44.
- Zain M.E. (2010). Impact of mycotoxins on humans and animals. *J Saudi Chem Soc.* 15:129-144.