

---

# RESIDU AFLATOKSIN M<sub>1</sub> PADA AIR SUSU SAPI DAN HUBUNGANNYA DENGAN KEBERADAAN AFLATOKSIN B<sub>1</sub> PADA PAKAN SAPI

Sjamsul Bahri, Ohim dan Romsyah Maryam

*Balai Penelitian Veteriner Bogor*

## ABSTRACT

*The presence of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) in commercial chicken feed raised question whether similar case may also be found in commercial feed of dairy cow. If it was happen, AFB<sub>1</sub> metabolite in the form of aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) may also be found in dairy milk. These ideas encourage us to do a preliminary study on AFM<sub>1</sub> residue in milk and its correlation with the AFB<sub>1</sub> content in the feed. Three dairy cow farms located at the Bogor city were used for the study. Milk and commercial feed of the cow were sampled and then tested against AFB<sub>1</sub> and AFM<sub>1</sub> content respectively with one week interval for a month. The result showed that AFM<sub>1</sub> in milk and AFB<sub>1</sub> in feed was always detected in every time of observation. The content of AFM<sub>1</sub> in milk was vary from 0.04 to 0.176 ppb, while AFB<sub>1</sub> in feed was from 6.4 to 48 ppb. There was a tendency that high content of AFB<sub>1</sub> in feed may result on high content of AFM<sub>1</sub> residue in milk. From this study it was concluded that AFM<sub>1</sub> in milk came from AFB<sub>1</sub> in the commercial feed consumed by the dairy cow.*

## ABSTRAK

*Banyaknya cemaran aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) pada pakan ayam komersial di Indonesia menimbulkan dugaan bahwa cemaran yang sama dapat dijumpai pada pakan atau bahan pakan ternak lainnya seperti konsentrat untuk sapi perah, sehingga dikhawatirkan air susu yang dihasilkannya akan mengandung metabolit aflatoksin B<sub>1</sub> yang berupa aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>). Untuk mengetahui hal tersebut, telah dilakukan penelitian pendahuluan dengan mempelajari residu aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu sapi dan hubungannya dengan*

keberadaan aflatoksin B<sub>1</sub> pada pakannya. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu dan aflatoksin B<sub>1</sub> pada pakan (konsentrat) selalu dijumpai pada setiap pengamatan (tiap minggu) selama 4 minggu berturut-turut pada 3 peternakan sapi perah di Kotamadia Bogor. Kadar AFM<sub>1</sub> berkisar antara 0,04 - 0,176 ppb, sedangkan kadar AFB<sub>1</sub> berkisar antara 6,4 - 48 ppb. Ada kecenderungan bahwa apabila kadar AFB<sub>1</sub> pada pakan tinggi, maka kadar AFM<sub>1</sub> pada air susu pun tinggi. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa AFM<sub>1</sub> yang dijumpai pada air susu itu berasal dari AFB<sub>1</sub> pada pakan yang dikonsumsi oleh sapi tersebut.

## PENDAHULUAN

Berbagai komoditas pertanian, terutama kacang tanah dan jagung, merupakan substrat yang cukup baik untuk berbiaknya kapang dari genus *Aspergillus*. Biasanya hal ini terjadi apabila mutu komoditas hasil pertanian tersebut kurang baik dan penyimpanannya tidak layak. Kelembaban dan suhu udara yang tinggi lebih mempercepat terjadinya serangan kapang. Dalam hal ini, kapang *Aspergillus flavus* dan atau *A. parasiticus* yang berbiak pada produk pertanian (termasuk pakan ternak) akan memproduksi senyawa beracun sebagai hasil metabolismenya yang dikenal sebagai aflatoksin (toksin yang berasal dari nama *Aspergillus flavus*).

Pada umumnya terdapat 4 macam senyawa aflatoksin alami sebagai produknya, yaitu aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> dan G<sub>2</sub>.<sup>1</sup> Dorner dkk.<sup>2</sup> mengemukakan bahwa *A. parasiticus* dapat menghasilkan ke-4 macam aflatoksin alami tersebut, sedangkan *A. flavus* biasanya hanya menghasilkan aflatoksin B<sub>1</sub> dan B<sub>2</sub> serta CPA (cyclopiazonic acid, asam siklopiazonat). Di antara ke-4 macam aflatoksin tersebut, hanya aflatoksin B<sub>1</sub> yang lebih banyak mendapat perhatian, karena selain ditemukan paling banyak, juga bersifat paling toksik.<sup>3</sup> Senyawa aflatoksin ini bersifat hepatotoksik dan karsinogenik, baik pada berbagai jenis hewan maupun pada manusia.<sup>4</sup>

Hasil penelitian Ginting<sup>5,6,7</sup> menunjukkan bahwa sebagian besar bahan baku pakan dan pakan unggas komersial di berbagai daerah di Indonesia telah tercemar oleh senyawa aflatoksin. Demikian juga hasil penelitian Widiastuti dkk.<sup>8,9</sup> menunjukkan bahwa jagung yang merupakan komponen utama pakan unggas telah tercemar oleh aflatoksin. Bahri dan Stoltz<sup>10</sup> bahkan telah melaporkan adanya mikotoksin, terutama toksin fusarium, pada silase jagung yang dipersiapkan untuk pakan sapi perah di daerah Salatiga, Jawa Tengah.

Mengingat adanya pencemaran aflatoksin pada pakan unggas, maka diduga telah terjadi pula pencemaran aflatoksin pada pakan ternak lain, seperti pakan (konsentrat) untuk sapi perah. Bila hal ini terjadi, maka akan

dijumpai residu aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu segar yang dihasilkan ternak tersebut. Hal ini sangat dimungkinkan, karena aflatoksin B<sub>1</sub> yang masuk ke dalam tubuh ternak akan mengalami metabolisme di dalam hati dan menghasilkan derivat (metabolit) yang dikenal sebagai aflatoksin M<sub>1</sub>.

Sampai saat ini, data atau informasi tentang hubungan antara pencemaran aflatoksin B<sub>1</sub> pada pakan ternak dan kandungan aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu yang diproduksi oleh ternak tersebut belum pernah dilaporkan di Indonesia.

Pada kesempatan ini telah dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui hubungan antara kadar aflatoksin B<sub>1</sub> pada konsentrat sapi perah dan kandungan aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu yang dihasilkannya.

## **BAHAN DAN CARA**

### **Pengambilan Sampel Pakan dan Air Susu**

Penelitian ini dilakukan di 3 peternakan yang berbeda di Kotamadia Bogor. Dalam penelitian ini, sampel berupa pakan (konsentrat) dan air susu segar dikoleksi sekaligus pada waktu yang bersamaan, kemudian diulang kembali setiap minggu selama 4 minggu berturut-turut. Dengan demikian, diperoleh 12 sampel pakan konsentrat dan 12 sampel air susu segar. Pakan berupa konsentrat untuk setiap peternakan diambil dari sumber yang sama, sedangkan air susu sapi segar diambil per peternak setelah air susu dari beberapa ekor sapi di peternakan tersebut disatukan. Selanjutnya, sampel-sampel tersebut dikemas dan disimpan dalam termos berisi es untuk dibawa ke laboratorium.

### **Analisis Aflatoksin B<sub>1</sub> pada Pakan**

Ekstraksi aflatoksin pada pakan dilakukan dengan menggunakan metode Blaney dkk.<sup>11</sup> Dalam hal ini, sebanyak 25 gram pakan yang telah digiling diekstraksi dengan asetonitril : KCl 4% : HCl 5M (dengan perbandingan 90 : 10 : 2) selama 30 menit pada alat pengocok (shaker). Cairan yang diperoleh disaring, kemudian diambil sebanyak 50 ml, lalu dikocok lagi dengan 2 x 50 ml n- heksan pada corong pemisah. Lapisan n-heksan (bagian atas) dibuang, sedangkan lapisan bagian bawah dikocok lagi dengan 2 x 50 ml diklorometan. Lapisan diklorometan diambil melalui corong yang berisi natrium sulfat anhidrat, lalu dikeringkan dengan menggunakan alat "rotatory evaporator", sedangkan ekstraknya dilarutkan kembali dengan volume tertentu dari aseton atau khloroform. Pendeteksian

aflatoksin dilakukan dengan menotolkan ekstrak pada lempeng khromatografi lapisan tipis (KLT) silika gel 60 (E Merck) dan dikembangkan dengan pelarut khloroform : aseton (dengan perbandingan 9 : 1) selama kira-kira 15 menit. Kadar aflatoksin B<sub>1</sub> ditentukan dengan membandingkannya dengan aflatoksin B<sub>1</sub> standar.

### **Analisis Aflatoksin M<sub>1</sub> pada Air Susu**

Ekstraksi aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu dilakukan dengan menggunakan metode Tyczkowska dkk.<sup>12</sup> Dalam hal ini, 20 ml larutan Pb-asetat 20% ditambahkan kepada 100 ml air susu sampai terbentuk endapan. Cairannya kemudian disaring, diambil sebanyak 50 ml dan dikocok dengan 2 x 50 ml n-heksan dalam corong pemisah. Selanjutnya, lapisan n-heksan dibuang dan lapisan bawahnya dikocok kembali dengan 2 x 50 ml khloroform. Lapisan khloroform ditampung melalui corong yang berisi natrium sulfat anhidrat, kemudian diuapkan dengan menggunakan alat "rotatory evaporator" hingga volumenya menjadi kira-kira 6 ml. Selanjutnya, pemurnian ekstrak dilakukan dengan memasukkan ekstrak khloroform ke dalam kolom silika (Sep-pak Silica Cartridge) dan dielusi dengan 2 x 50 ml campuran heksan : eter (dengan perbandingan 7 : 3). Hasil pengelusian pertama dibuang, selanjutnya dielusi kembali dengan 7 ml larutan kloroform : metanol (dengan perbandingan 9 : 1) dan ditampung ke dalam labu peng-uap, kemudian dikeringkan dengan menggunakan "rotatory evaporator". Pendeteksian aflatoksin M<sub>1</sub> dilakukan dengan menotolkan ekstrak pada lempeng KLT silika gel 60 No.5553 (E.Merck, Darmstadt) dan dikembangkan dengan pelarut campuran khloroform : aseton : isopropanol (87:10:3) selama kurang lebih 15 menit. Kandungan aflatoksin M<sub>1</sub> dalam sampel ditentukan dengan membandingkan hasil analisis dengan aflatoksin M<sub>1</sub> standar yang diamati di bawah lampu UV pada 365 nm. Aflatoksin dalam sampel dihitung dengan rumus tertentu dengan batas pendeteksian berkisar antara 0,03 - 0,05 ppb.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kadar aflatoksin B<sub>1</sub> pada pakan dan kadar aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu dapat dilihat pada Tabel 1. Dari tabel ini dapat dilihat bahwa pada konsentrasi (pakan) sapi perah selalu ditemukan aflatoksin B<sub>1</sub>, walaupun kandungannya tidak tinggi. Demikian pula, aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu selalu ditemukan selama 4 minggu pengamatan. Hasil pengamatan ini menim-

bulkan dugaan bahwa aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu tersebut berasal dari aflatoksin B<sub>1</sub> yang terdapat pada konsentrat yang selalu dikonsumsi oleh sapi-sapi tersebut. Dugaan ini diperkuat oleh berbagai pengamatan para peneliti terdahulu yang melaporkan bahwa sapi perah yang diberi ransum mengandung aflatoksin B<sub>1</sub> akan menghasilkan air susu yang mengandung aflatoksin M<sub>1</sub>.<sup>3,13,14</sup> Bahwa aflatoksin M<sub>1</sub> merupakan hasil atau metabolit dari aflatoksin B<sub>1</sub> telah dilaporkan oleh Wogan<sup>15</sup> dan Polan dkk.<sup>16</sup>

Tabel 1. Kandungan aflatoksin B<sub>1</sub> pada pakan (konsentrat) dan kadar aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu yang dihasilkannya

Waktu pengamatan	Peternak	Kadar AFB <sub>1</sub> pada pakan (ppb)	Kadar AFM <sub>1</sub> pada air susu (ppb)
1. Minggu ke I	A	6,4	0,04
	B	16,0	0,04
	C	24,0	0,09
2. Minggu ke II	A	24,0	0,045
	B	16,0	0,061
	C	24,0	0,102
3. Minggu ke III	A	43,2	0,063
	B	16,0	0,105
	C	48,0	0,071
4. Minggu ke IV	A	48,0	0,103
	B	40,0	0,058
	C	24,0	0,176

Nama aflatoksin M<sub>1</sub> dipergunakan karena derivat aflatoksin ini pertama kali ditemukan pada air susu (milk) setelah aflatoksin B<sub>1</sub> mengalami proses biotransformasi di dalam tubuh. Oleh karena itu, nama derivat aflatoksin ini diberi akhiran M. Terdapat 2 macam aflatoksin M pada air susu, yaitu aflatoksin M<sub>1</sub> yang berasal dari turunan aflatoksin B<sub>1</sub> dan aflatoksin M<sub>2</sub> yang merupakan turunan aflatoksin B<sub>2</sub>.<sup>4</sup>

Dalam penelitian ini, aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu telah terdeteksi setiap minggu sejak awal pengamatan. Keadaan ini, selain disebabkan karena konsentrat (pakan) yang diberikan mengandung aflatoksin B<sub>1</sub>, juga karena aflatoksin tersebut di dalam tubuh dikeluarkan secara lambat seperti yang dikemukakan oleh Stubblefield dkk.<sup>14</sup> Bahkan Trucksess dkk.<sup>13</sup> melaporkan bahwa sampai dengan hari ke-10 (240 jam) setelah pemberian aflatoksin dosis tunggal (0,5 mg/kg bobot badan) pada sapi laktasi, kadar afla-

toksin M<sub>1</sub> dan B<sub>1</sub> masih dapat dijumpai pada air susunya walaupun dengan kadar yang sangat rendah. Selanjutnya diketahui bahwa kadar aflatoksin M<sub>1</sub> pada ginjal dan kelenjar ambing (mammae) mencapai 40 kali lebih besar dari pada kadar aflatoksin B<sub>1</sub>, sedangkan kadar total aflatoksin di dalam tubuh terkonsentrasi pada ginjal, hati dan kelenjar ambing. Keadaan ini menggambarkan bahwa aflatoksin M<sub>1</sub> merupakan metabolit utama dari aflatoksin B<sub>1</sub> dan banyak dijumpai pada air susu.

Kandungan aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu yang diamati dalam penelitian ini ternyata masih belum melampaui batas ambang yang dapat membahayakan kesehatan manusia yang mengonsumsi air susu tersebut, yakni 0,5 µg/kg. Ketentuan mengenai batas ambang sebesar 0,5 µg/kg ini didasarkan pada standar yang dikeluarkan oleh FDA (Food and Drug Administration) di Amerika Serikat. Rendahnya kadar aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu ini disebabkan oleh kadar aflatoksin B<sub>1</sub> pada pakannya (konsentrat) yang juga relatif rendah. Walaupun demikian, masalah ini tidak dapat diabaikan begitu saja dan perlu mendapat perhatian, karena aflatoksin M<sub>1</sub> ini masih mempunyai sifat karsinogenik, seperti yang telah dilaporkan oleh Cullen dkk.<sup>17</sup> Selain itu, kemungkinan dampak yang akan ditimbulkan dari aflatoksin M<sub>1</sub> pada air susu tersebut tidak hanya pada ternaknya, tetapi juga menyangkut manusia yang akan mengonsumsi air susu tersebut.

## KEPUSTAKAAN

1. Diener UL and Davis N. Aflatoxin Formation by *Aspergillus flavus*. In : Goldblatt LA (ed). Aflatoxins. Academic Press, New York, USA. 1969; 77-105.
2. Dorner JW, Cole RJ and Diener UL. The Relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with Reference to Production of Aflatoxins and Cyclopiazonic Acid. *Mycopathologia* 1984; 87: 13-15.
3. Bainton SJ, Coler RD, Jones BD, Morley EM, Nagler MJ and Turner RL. Mycotoxin Training Manual Tropical Product. Institute. London. 1980; 20-65.
4. Goldblatt LA. Introduction to Aflatoxin. In : Goldblatt LA (ed). Aflatoxins. Academic Press. New York. 1969; 1-11.
5. Ginting Ng. Aflatoksin di dalam Bahan Baku Pakan dan Pakan Ayam Pedaging. I. Di Daerah Bogor. *Penyakit Hewan* 1984; 16: 152-155.
6. Ginting Ng. Aflatoksin pada Pakan Ayam Pedaging di Daerah Khusus Ibukota Jakarta Raya dan Kotamadya Pontianak. *Penyakit Hewan* 1984; 16: 212-214.
7. Ginting Ng. Variasi Kejadian dan Kandungan Aflatoksin pada Jagung yang bersumber dari Tegal, Thailand dan Lampung pada Satu Pabrik Makanan Ternak di Bogor. *Penyakit Hewan* 1986; 18: 79-81.

8. Widiastuti R, Maryam R, Blaney BJ, Salfina, and Stoltz DR. Corn as A Source of Mycotoxins in Indonesian Poultry Feeds and the Effectiveness of Visual Examination Methods for Detecting Contamination. *Mycopathologia* 1988; 102: 45-49.
9. Widiastuti R, Maryam R, Blaney BJ, Salfina, and Stoltz DR. Cyclopiazonic Acid in Combination with Aflatoxins, Zearalenone and Ochratoxin A in Indonesian Corn. *Mycopathologia* 1988; 104: 153-156.
10. Bahri S and Stoltz DR. Investigation of Suspected Oestrogenism and Feed Refusal. Final Report Submitted to PT Nandi Amerta Agung, Salatiga. 1988. (Laporan intern, tidak dipublikasikan).
11. Blaney BJ, Moore CJ and Tyler AL. Mycotoxins and Fungal Damage in Maize Harvested During 1982 in Far North Queensland. *Aust J Agric Res* 1984; 35: 463-471.
12. Tyczkowska K, Hutchins JE and Hagler WM. Liquid Chromatographic Determination of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Milk. *J Assoc Off Anal Chem* 1984; 46(4): 739-741.
13. Trucksess MW, Richard JL, Stoloff L, McDonald JS and Brumley WC. Absorption and Distribution Patterns of Aflatoxicol and Aflatoxins B<sub>1</sub> and M<sub>1</sub> in Blood and Milk of Cows Given Aflatoxins B<sub>1</sub>. *Am J Vet Res* 1983; 44(9): 1753-1956.
14. Stubblefield RD, Pier AC, Richard JL and Shotwell UL. Fate of Aflatoxins in Tissues, Fluids, and Excrements from Cows Dosed Orally with Aflatoxin B<sub>1</sub>. *Am J Vet Res* 1983; 44(9): 1750-1752.
15. Wogan GN. Metabolism and Biochemical Effects of Aflatoxins. In: Goldblatt LA (ed). Aflatoxins. Academic Press. New York. 1969; 152-157.
16. Polan CE, Hayes JR and Campbell TC. Consumption and Fate of Aflatoxin B<sub>1</sub> by Lactating Cows. *J Agric Food Chem* 1974; 22: 635- 638.
17. Cullen JM, Reubner BH, Hsieh LS, Hyde DM and Hsieh DP. Carcinogenicity of Dietary Aflatoxin M<sub>1</sub> in Male Fischer Rats Compared to Aflatoxin B<sub>1</sub>. *Cancer Res* 1987; 47(7): 1913-1917.