

Deteksi Deoksinivalenol dan Toksin T-2 dalam Pakan Menggunakan Kromatografi Gas dengan *Electron Captured Detector*

R. WIDIASTUTI dan INDRANINGSIH

Balai Besar Penelitian Veteriner
Jl. RE Martadinata 30, Bogor 16114, Indonesia
Email : widiastuti_raphaella@yahoo.com

(Diterima dewan redaksi 1 Juli 2009)

ABSTRACT

WIDIASTUTI, R. and INDRANINGSIH. 2009. Detection of deoxynivalenol and T-2 toxin in feeds by gas chromatography with Electron Captured Detector. *JITV* 14(3): 230-236.

Deoxynivalenol (DON) and T-2 toxin are trichothecene mycotoxins produced by *Fusarium* spp. may pose to threat animal health. This research was aimed to validate an analysis method for DON and T-2 toxin detection in feed using a gas chromatography with electron captured detector ECD (GC-ECD) and to study the contamination level of DON and T-2 toxin in feed. Samples were extracted with organic solvents and derivitized with DMAP and HFBA prior to the detection with GC. Both toxins can be detected simultaneously with satisfied validation with GC. Analysis for DON showed that 17 out of 24 corn samples were positive (0.450 to 1.126 mg/kg), none was positive for 20 rice husk samples and 1 out of 14 cattle feed samples was positive (0.043 mg/kg), whereas analysis for T-2 toxin showed that 2 out of 24 corn samples were positive (0.022 and 0.063 mg/kg), 14 out of 20 rice husk samples were positive (0.027 to 0.720 mg/kg) and 6 out of 14 cattle feed samples were positive (0.039 to 0.084 mg/kg). The study showed that DON and T-2 toxin can be detected using GC-ECD. Whereas, the analysis results from field samples showed that the feeds were still safe to be used for animal feed, however a routine surveillance is needed to minimize further potential hazards.

Key words: Deoxynivalenol, T-2 toxin, Gas Chromatography, Feeds

ABSTRAK

WIDIASTUTI, R. dan INDRANINGSIH. 2009. Deteksi deoksinivalenol dan toksin T-2 dalam pakan menggunakan kromatografi gas dengan *Electron Captured Detector*. *JITV* 14(3): 230-236.

Deoksinivalenol (DON) dan toksin T-2 adalah mikotoksin golongan trikotesena yang dihasilkan oleh kapang *Fusarium* spp. yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan hewan. Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi metoda analisis DON dan toksin T-2 dalam pakan menggunakan kromatografi gas dengan *electron captured detector* (KG-ECD) serta menentukan tingkat kontaminasi DON dan toksin T-2 dalam pakan. Sampel diekstraksi dengan pelarut organik dan diderivatisasi dengan DMAP dan HFBA sebelum dianalisis dengan KG-ECD. Kedua jenis mikotoksin ini dapat dideteksi secara bersamaan dengan hasil validasi yang memenuhi syarat. Hasil analisis terhadap DON menunjukkan bahwa 17 dari 24 sampel jagung positif (0,450 hingga 1,126 mg/kg), tidak ada yang positif terhadap DON pada 20 sampel dedak padi dan hanya 1 dari 14 sampel pakan sapi positif (0,043 mg/kg), sedangkan hasil analisis terhadap toksin T-2 menunjukkan bahwa 2 diantara 24 sampel jagung positif (0,022 dan 0,063 mg/kg), 14 dari 20 sampel dedak padi positif (0,027 hingga 0,720 mg/kg) dan 6 dari 14 sampel pakan sapi positif (0,039 hingga 0,084 mg/kg). Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa mikotoksin DON dan toksin T-2 dapat dideteksi menggunakan KG-ECD. Sedangkan hasil analisis pada sampel lapang menunjukkan bahwa pakan masih aman untuk digunakan sebagai pakan ternak, namun pengawasan rutin terhadap kontaminasi DON dan toksin T-2 tetap diperlukan untuk meminimalkan bahaya lebih lanjut.

Kata kunci : Deoksinivalenol, Toksin T-2, Kromatografi Gas, Pakan

PENDAHULUAN

Pakan merupakan salah satu faktor yang sangat penting dalam menunjang keberhasilan usaha peternakan. Namun salah satu kendala yang timbul dalam penyediaan pakan adalah kontaminasi mikotoksin akibat tumbuhnya kapang pada pakan. Mikotoksin merupakan hasil metabolit sekunder dari kapang yang bersifat toksik. Mikotoksin selain

aflatoksin yang banyak mencemari pakan dan bahan pakan (termasuk jagung) adalah golongan trikotesena seperti deoksinivalenol (DON) dan toksin T-2 yang dihasilkan oleh *Fusarium* spp.

Toksin T-2 merupakan salah satu contoh trikotesena tipe A sedangkan DON adalah contoh trikotesena tipe B, dimana kedua tipe ini memiliki perbedaan utama pada gugus fungsional R5 yaitu $\text{OCOCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ untuk toksin T-2 dan O untuk DON seperti yang terlihat

pada Gambar 1. DON merupakan jenis yang banyak dipelajari dan banyak ditemukan pada berbagai komoditas pertanian (terutama wheat) di Jerman, Amerika Serikat dan Argentina. Sementara toksin T-2 dilaporkan yang paling toksik (PLACINTA *et al.*, 1999).

Hewan ternak yang sangat peka terhadap DON dan toksin T-2 adalah babi dan yang paling tidak peka adalah unggas. Efek klinis yang ditimbulkan pada hewan percobaan diantaranya adalah penolakan pakan, muntah-muntah, perdarahan, iritasi kulit, gangguan sistem imunitas bahkan kematian (OSWEILER *et al.*, 1985; BAHRI *et al.*, 1990). Pengaruh lainnya adalah terbentuknya residu yang dapat ditransmisikan dari ayam ke telur (SYPECKA *et al.*, 2004) serta organ hati (PANDEY *et al.*, 2005) dan daging (PRELUSKY dan TRENHOLM, 1991).

Keberadaan trikotesena mikotoksin secara alamiah di negara-negara Asia termasuk Indonesia pernah dilaporkan oleh ALI *et al.* (1998) dan WIDIASTUTI dan FIRMANSYAH (2005). Mengingat dampak yang ditimbulkan terutama bagi kesehatan hewan, keberadaan kedua jenis mikotoksin ini pada pakan dan bahan pakan perlu dimonitor apakah masih aman untuk dikonsumsi ternak dengan mengacu kepada ketentuan dari ambang batas maksimum yang diijinkan.

Komposisi yang kompleks dari matrik sampel serta bervariasinya sifat fisika dan kimia mikotoksin membutuhkan teknik deteksi yang dapat mengkuantifikasi multi mikotoksin secara selektif dan sensitif. Berbagai metoda deteksi yang telah dikembangkan dalam mendeteksi trikotesena mikotoksin (khususnya toksin T-2 maupun DON). Penggunaan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (WALKER dan MEIER, 1998) terbatas hanya untuk trikotesena tipe B karena tidak adanya gugus kromofor pada tipe A. Metoda deteksi secara *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) (HILL, *et al.*, 2008) memiliki kekurangan utama yaitu tidak dapat digunakan untuk pengujian multi mikotoksin trikotesena.

Sejauh ini, metoda deteksi yang digunakan dalam mendeteksi DON dan toksin T-2 adalah kromatografi lapis tipis (KLT) yang diadopsi dari BLANEY *et al.* (1984) dan KAMIMURA *et al.* (1981), namun metoda tersebut mempunyai keterbatasan pada penggunaan

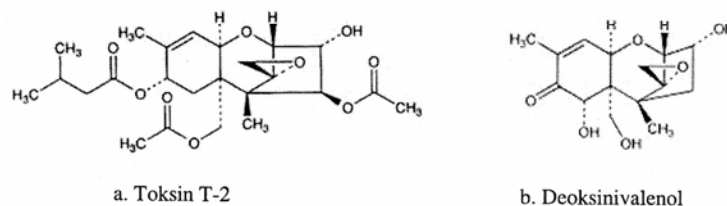
banyaknya volume pengekstrak serta hasil analisis yang bersifat semikuantitatif. Sedangkan metoda deteksi menggunakan kromatografi gas (KG) dengan *electron captured detector* (ECD) (CROTEAU *et al.*, 1994) menawarkan keunggulan mampu mendeteksi tipe A dan B trikotesena sekaligus dengan sensitivitas yang tinggi.

Tujuan dari penelitian ini adalah memvalidasi metoda deteksi DON dan toksin T-2 secara kuantitatif menggunakan KG-ECD yang diadopsi dari metoda yang dikembangkan oleh CROTEAU *et al.* (1994) untuk menggantikan metoda deteksi dengan KLT yang selama ini digunakan dan kemudian diaplikasikan untuk mengetahui tingkat cemaran mikotoksin tersebut dalam sampel jagung, dedak padi dan pakan sapi yang berasal dari beberapa lokasi di Jawa Tengah.

MATERI DAN METODE

Ekstraksi dan deteksi DON dan toksin T-2

Metoda ekstraksi diadopsi dari metoda yang dikembangkan oleh CROTEAU *et al.* (1994). Sebanyak 20 gram sampel dimasukkan kedalam 250 ml labu Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 100 ml asetonitril : air (84 : 16). Selanjutnya dikocok dengan menggunakan alat *shaker* selama 1,5 jam serta didiamkan 15-30 menit. Selanjutnya ekstrak disimpan pada suhu 5°C selama 24 jam sebelum proses *clean-up*. Berikutnya diambil sebanyak 50 ml ekstrak dan dimasukan ke dalam labu sentrifus dan ke dalamnya ditambahkan 200 mg amonium sulfat anhidrat, kemudian dipusingkan dengan vortex selama 10-15 menit dan dilanjutkan dengan disentrifus 3000 rpm selama 2 menit. Ekstrak lapisan atas yang terpisah diambil dan dikeringkan dengan rotavapor hingga mendekati 5 ml. Larutan ekstrak tersebut kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang berisi 0,7 gr alumina netral dan 0,75 gr Darco G-60 karbon aktif yang telah dikondisikan dengan 15 ml asetonitril : air (84 : 16). Kolom dielusi dengan 2 x 5 ml asetonitril : air (84 : 16) dan ditampung dalam labu florentin 50 mL, selanjutnya dikeringkan dengan rotavapor sampai kering.



Gambar 1. Struktur kimia (a) toksin T-2 dan (b) deoksinivalenol

Sebelum diinjeksikan ke alat KG, ekstrak harus diderivatisasi terlebih dahulu dengan menambahkan 100 μ L larutan dimetil aminopiridin (DMAP) dengan konsentrasi 2 mg/mL dalam toluen : asetonitril (8 : 2) yang berfungsi sebagai katalisator dan divortex 3 detik, selanjutnya ditambahkan 50 μ L anhidrida heptafluorobutirat (*heptafluorobutyric anhydride*, HFBA), dan dipusingkan kembali dengan vortex selama 3 detik. Larutan dipanaskan pada suhu 60°C selama 20 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan 1000 μ L larutan 3% NaHCO₃ dan divortex 15 detik, kemudian disentrifus 3000 rpm selama 2 menit. Lapisan atas yang terpisah diambil dan tambahkan 1000 μ L akuades ke dalamnya dan divortex 5 detik dan disentrifus kembali 3000 rpm selama 2 menit. Lapisan atas (lapisan toluen) hasil derivatisasi dipisahkan dan larutan ini siap dideteksi terhadap DON dan toksin T-2 dengan KG-ECD.

Perangkat KG yang digunakan adalah Trace GC 2000 series (Thermo Finnigan, Milan, Italia) dengan ECD detektor. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler Rtx-1701 (Restek, USA) dengan panjang 30 m, diameter internal 0,25 mm dan ketebalan lapisan film 1 μ m. Kondisi alat yang digunakan adalah : suhu injektor 250°C, suhu detektor 300°C dan program suhu 1 menit pada 80°C, dinaikan 80-140°C dengan kenaikan suhu 30°C/menit, selanjutnya 140-280°C dengan kenaikan suhu 5°C/menit dan kecepatan alir gas helium 1,3 mL/menit. Penginjeksian sistem *splitless* digunakan dengan waktu 0,8 menit dan volume injeksi 1 μ L.

Validasi metoda

Validasi metoda adalah suatu proses yang menampilkan beberapa uji yang ditujukan untuk memverifikasi bahwa uji analitik yang dilakukan adalah tepat dan mampu menjamin data analisis yang valid bila digunakan secara rutin. Validasi metode analisis meliputi beberapa parameter, yaitu linearitas, presisi, akurasi (ketepatan), dan batas kuantitasi (*limit of quantitation*, LOQ).

Linearitas dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari larutan baku DON dan toksin T-2 pada 5 tingkat konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5 ng/mL) dan dibuat perhitungan garis regresi untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi toksin DON dan T-2 dengan luas puncak yang dinyatakan dalam koefisien korelasi (r^2). Presisi dilakukan dengan menyuntikkan larutan baku DON dan toksin T-2 pada konsentrasi 250 ng/mL sebanyak 5 kali dan dilihat nilai simpangan baku relatif (RSD)-nya. Akurasi dilakukan dengan cara menambahkan larutan baku DON (400 ng/mL) dan toksin T-2 (600 ng/mL) ke dalam sampel jagung dalam 3 ulangan, kemudian hasil yang diperoleh dibandingkan (dalam %) terhadap konsentrasi larutan baku yang ditambahkan. Sedangkan batas deteksi (*limit of*

quantitation = LOQ) dari dilakukan dengan menyuntikkan larutan baku toksin T-2 dan DON pada konsentrasi terkecil yang masih dapat terdeteksi oleh alat (62,5 ng/mL) sebanyak 5 kali dan dilihat simpangannya. Penentuan LOQ dihitung dengan rumus berikut : $LOQ = 10 \times SD/b$, dimana SD adalah simpangan baku luas puncak blanko dan b adalah kemiringan kurva (*slope*) yang diperoleh dari persamaan regresi.

Pengujian pada sampel lapang

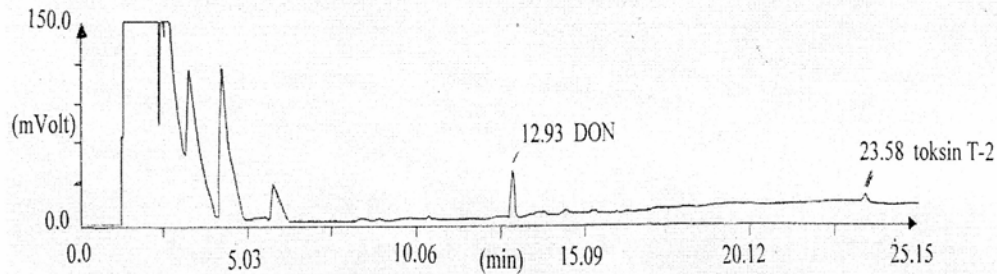
Sampel lapang berupa 24 sampel jagung, 20 sampel dedak padi dan 14 sampel pakan sapi diperoleh secara acak dari berbagai pasar, Koperasi Unit Desa (KUD) dan peternak di Kabupaten Blora, Kabupaten Wonogiri, Kabupaten Semarang dan Kota Salatiga di Propinsi Jawa Tengah. Selanjutnya, sampel disimpan pada lemari pendingin -20°C hingga saat dianalisis setelah terlebih dahulu digiling halus dan dihomogenkan. Keseluruhan sampel diekstraksi terlebih dulu sebelum dilakukan deteksi terhadap DON dan toksin T-2 menggunakan metoda yang telah dijelaskan di atas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi metode analisis

Validasi metoda analisis dilakukan karena pada penelitian ini dilakukan modifikasi pengurangan berat sampel dari 50 gr menjadi 20 gr disertai pengurangan volume bahan pengekstrak asetonitril : air (84:16) yaitu dari 500 mL menjadi 100 ml, sehingga terjadi penghematan 336 mL asetonitril di samping adanya modifikasi-modifikasi lainnya. Validasi metoda bertujuan untuk menunjukkan bahwa bila metoda analisis yang digunakan tersebut apabila diaplikasikan secara tepat akan menghasilkan hasil analisis yang sesuai dengan tujuannya.

Kolom KG yang digunakan untuk mendeteksi DON dan toksin T-2 adalah kolom kapiler Rtx-1701 yang mempunyai sifat yang sama dengan DB-1701 sebagaimana yang digunakan CROTEAU *et al.*, (1994) yang dapat memisahkan kedua mikotoksin dalam waktu analisis (waktu retensi, Rt) yang tidak jauh berbeda dari metoda acuan yaitu 12,93 menit untuk DON dan 23,58 menit untuk toksin T-2 seperti yang terlihat pada Gambar 1. Derivatisasi menggunakan DMAP dan HFBA mengubah kedua senyawa mikotoksin menjadi derivat yang tepat dan sangat sensitif untuk dideteksi dengan KG dengan detektor ECD dan bersifat lebih stabil dibandingkan dengan derivatisasi menggunakan asam trifluoroasetat (CROTEAU *et al.*, 1994). Pendeteksian menggunakan KG-ECD.



Gambar 2. Kromatogram standar 250 ng/mL DON dan toksin T-2 dengan kromatografi gas

Rangkuman hasil validasi metoda pendeteksian DON dan toksin T-2 yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1, dan hasil tersebut dibandingkan terhadap acuan yang dipersyaratkan oleh GREEN (1996) dan CROTEAU *et al.* (1994).

Tabel 1. Parameter analisis DON dan toksin T-2 dalam jagung dengan KCKT

Parameter	DON	Toksin T-2	Syarat*
Uji linearitas (r^2)	0,9970	0,9950	> 0,999
Uji presisi (% area)	1,4200	0,4700	≤ 2,00
Uji perolehan kembali (%)	93,4800	84,8500	80-120
LOQ (mg/kg)	0,0160	0,0190	0,050**

* GREEN (1996);

** CROTEAU *et al.*, 1994

Hasil uji parameter-parameter analisis yang diperoleh pada penelitian ini telah memenuhi syarat validasi (GREEN, 1996) dengan nilai LOQ DON (0,016 mg/kg) dan toksin T-2 (0,019 mg/kg) dan yang diperoleh lebih rendah dari acuan yang digunakan (0,050 mg/kg) yang berarti instrumen yang digunakan lebih sensitif dibandingkan metoda acuan (CROTEAU *et al.*, 1994). LOQ yang diperoleh tersebut juga lebih rendah bila dibandingkan cara pendeteksian secara ELISA (DON 0,200 mg/kg dan toksin T-2 0,035 mg/kg) (TANGENDJAJA *et al.*, 2008).

Dengan terpenuhinya persyaratan uji validasi suatu metoda, maka pengembangan metoda di atas dapat diterapkan untuk menganalisis DON dan toksin T-2 dalam jagung maupun pakan karena pakan menggunakan sekitar 70% jagung. Batasan yang diterapkan untuk menyatakan hasil yang positif terhadap kontaminan DON dan toksin T-2 adalah bila nilainya di atas nilai LOQ, sedangkan bila hasil yang

diperoleh di bawah LOQ maka sampel akan dinyatakan sebagai tidak terdeteksi.

Kontaminasi DON dan toksin T-2 pada sampel jagung, dedak padi dan pakan sapi

Sampel jagung, dedak dan pakan sapi asal lapang dianalisis terhadap DON dan toksin T-2 menggunakan metoda analisis yang telah divalidasi di atas. Rangkuman hasil analisis terhadap DON dan toksin T-2 pada 24 sampel jagung, 20 sampel dedak padi dan 14 sampel pakan sapi dapat dilihat pada Tabel 2.

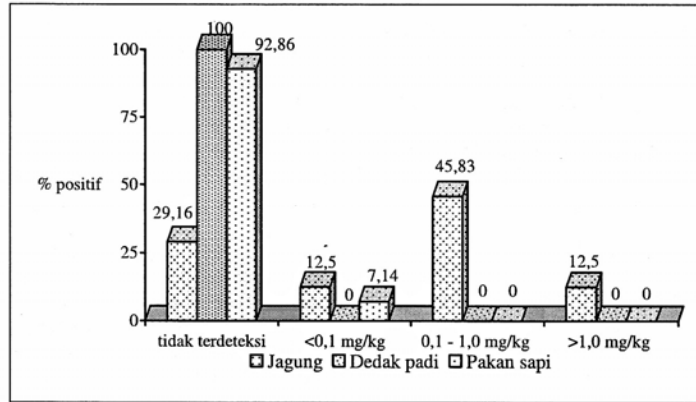
Hasil analisis terhadap DON menunjukkan bahwa pada 24 sampel jagung, 7 (29,17%) diantaranya tidak terdeteksi DON, 17 dari 24 sampel jagung positif terhadap DON pada kisaran konsentrasi 0,045 hingga 1,126 mg/kg dengan perincian 3 (12,5%) sampel terkontaminasi DON pada kisaran konsentrasi di bawah 0,1 mg/kg, 11 (45,83%) sampel terkontaminasi DON pada kisaran konsentrasi antara 0,1 hingga 1,0 mg/kg dan 3 (12,5%) sampel terkontaminasi DON dengan konsentrasi di atas 1,0 mg/kg. Pada 20 sampel dedak tidak ada yang positif terhadap DON. Sedangkan pada 14 sampel pakan hanya 1 (7,14%) sampel yang positif terhadap DON dengan konsentrasi 0,043 mg/kg. Distribusi sebaran tingkat kontaminasi DON pada sampel lapang tersebut disajikan dalam Gambar 3.

Sedangkan untuk kontaminasi toksin T-2 pada 24 sampel jagung hanya ditemukan 2 (8,37%) sampel positif terhadap toksin T-2 dengan konsentrasi 0,022 dan 0,063 mg/kg dan sisanya sebanyak 22 (91,67%) tidak terdeteksi adanya kontaminasi toksin T-2. Dalam 20 sampel dedak, didapatkan 14 (70%) sampel terkontaminasi toksin T-2 dengan kisaran konsentrasi antara 0,027 hingga 0,900 mg/kg. Sedangkan dalam 14 sampel pakan sapi ditemukan 6 (42,86%) sampel terkontaminasi dengan toksin T-2 dengan kisaran 0,039 hingga 0,084 mg/kg dan sisanya 8 (57,14%) tidak terdeteksi adanya toksin T-2. Distribusi sebaran tingkat kontaminasi toksin T-2 pada sampel lapang tersebut disajikan dalam Gambar 4.

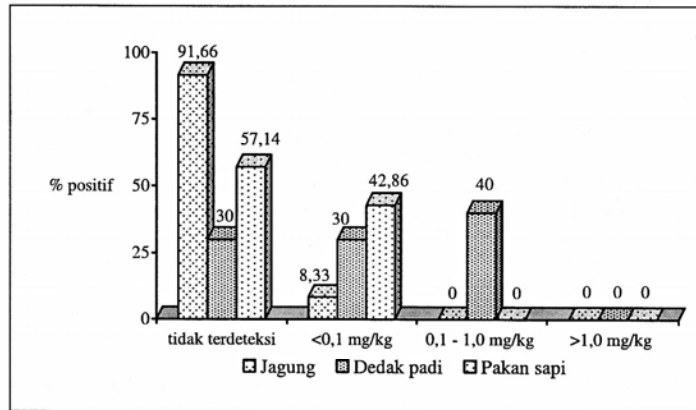
Tabel 2. Hasil analisis DON dan toksin T-2 pada sampel jagung, dedak padi dan pakan sapi

Sampel	n	DON (mg/kg)			Toksin T-2 (mg/kg)		
		tt	Kisaran sampel positif	Rerata sampel positif	tt	Kisaran sampel positif	Rerata sampel positif
Jagung	24	7	0,045 - 1,126	0,367	22	0,022 - 0,063	0,003
Dedak padi	20	20	-	-	6	0,027 - 0,900	0,288
Pakan sapi	14	13	0,043	0,003	8	0,039 - 0,084	0,009

tt : tidak terdeteksi (DON : <0,016 mg/kg dan toksin T-2 : <0,019 mg/kg)



Gambar 3. Distribusi sebaran kontaminasi DON pada berbagai tingkatan konsentrasi dari sampel jagung, dedak padi dan pakan sapi



Gambar 4. Distribusi sebaran kontaminasi toksin T-2 pada berbagai tingkatan konsentrasi dari sampel jagung, dedak dan pakan sapi

Pada penelitian ini, jenis sampel yang terbanyak terkontaminasi oleh DON adalah jagung dan serupa dengan yang diketemukan oleh KIM *et al.* (1993) pada sampel jagung asal Korea. Sedangkan pada sampel dedak padi dan pakan tidak ditemukan adanya

kontaminasi DON, melainkan toksin T-2. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis kapang yang tumbuh pada kedua bahan pakan tersebut, dimana DON umumnya diproduksi oleh *Fusarium roseum* dan/atau *F. graminearum* sedangkan toksin T-2

diproduksi oleh *F. sporotrichioides* (MIROCHA *et al.*, 1977). Perbedaan tersebut juga mengartikan mengartikan bahwa kemungkinan komposisi bahan baku terbesar dalam pembuatan pakan sapi bukan jagung tetapi bahan baku lainnya seperti dedak.

Namun, tingkat kontaminasi DON pada sampel-sampel tersebut berbeda dengan penelitian serupa sebelumnya (WIDIASTUTI dan FIRMANSYAH, 2005) yang dideteksi dengan KLT yang tidak menemukan adanya sampel yang melebihi 1 mg/kg baik dari sampel jagung, pakan maupun dedak yang positif terhadap DON. Sedangkan tidak ditemukannya kontaminasi DON pada dedak padi, mungkin serupa dengan penelitian DESIARDINS *et al.* (2000) yang tidak menemukan adanya kontaminasi DON pada beras di Nepal. Kecilnya rerata kontaminasi toksin T-2 yang ditemukan pada jagung (0,003 mg/kg) dan pakan (0,009 mg/kg), menyerupai dengan yang ditemukan TANGENDAJA *et al.* (2000) yang mendapatkan konsentrasinya hampir tidak terdeteksi (*trace*).

Dengan tingkat kontaminasi tertinggi untuk DON sebesar 1,126 mg/kg dan toksin T-2 0,900 mg/kg yang terdapat pada jagung dan dedak, maka bahan pakan tersebut masih belum berbahaya bila digunakan sebagai pakan sapi. Penurunan produksi susu terjadi pada dosis kontaminasi DON sebesar 2,6 hingga 6,5 mg/kg (CHARMLEY *et al.*, 1993) atau 2,5 mg/kg (DIAZ *et al.*, 2001). Sapi lebih toleran terhadap mikotoksin trikotesena dibandingkan dengan hewan lainnya. Kemungkinan karena terjadinya degradasi mikotoksin oleh mikroba di rumen (KIESSLING *et al.*, 1984), dimana toksin T-2 akan dimetabolisir menjadi hidroksi T-2 (HT-2) dengan toksisitas sepersepuluhnya toksin T-2, dan DON diubah menjadi de-epoksi deoksinivalenol (DOM-1) yang tidak toksik (YIANNIKOURIS dan JOUANNY, 2001).

Sejauh ini belum ada kesepakatan regulasi secara internasional untuk menetapkan ambang batas trikotesena khususnya untuk DON dan toksin T-2. Hanya beberapa negara (Kanada, Amerika Serikat) telah menyarankan ambang batas (*advisory level*) DON untuk pakan sapi potong dan ayam yakni sebesar 10 mg/kg (biji-bijian) dan 5 mg/kg (pakan jadi) dan untuk pakan babi sebesar 5 mg/kg (biji-bijian) dan 1 mg/kg (pakan jadi), sedangkan untuk toksin T-2 juga belum ditetapkan ambang batasnya, hanya saja dianjurkan agar pakan tidak mengandung toksin T-2 melebihi 0,1 mg/kg (HENRY, 2006). Oleh karena babi merupakan hewan ternak yang paling peka terhadap DON dan toksin T-2, maka ambang batas yang dianjurkan untuk pakan babi adalah 0,30 mg/kg (ERIKSEN dan PETERSSON, 2004). *The European Commission* belum mengatur ambang batas maksimum untuk bahan pakan yang digunakan untuk produk pakan. China telah menetapkan besaran maksimum toksin T-2 sebesar 0,008 mg/kg untuk pakan segala ternak (SOKOLOVI *et al.*, 2008). Namun perlu

juga diperhatikan bahwa mikotoksin trikotesena lainnya seperti diasetoksiskirpenol (DAS), dan nivalenol biasanya terdeteksi bersamaan dengan toksin T-2 maupun DON dan memperlihatkan gejala toksisitas yang sama (WHITLOW dan HAGLER, 2002).

KESIMPULAN

Kromatografi gas dengan ECD (KG-ECD) dapat digunakan untuk menganalisis mikotoksin DON dan toksin T-2 dalam pakan. Hasil uji validasi metoda yang meliputi linearitas, presisi, perolehan kembali, batas kuantitasi, telah memenuhi persyaratan validasi metoda. Pengembangan metoda deteksi lebih lanjut untuk jenis trikotesena lainnya (misal diasetoksiskirpenol = DAS) masih perlu dilakukan baik dengan sistem deteksi yang sama (menggunakan detektor ECD) ataupun deteksi lainnya (menggunakan detektor FID).

Sampel jagung, dedak padi dan pakan sapi yang berasal dari Kabupaten Blera, Wonogiri, Semarang dan Kota Salatiga masih aman untuk digunakan sebagai pakan ternak. Walaupun tingkat kontaminasi mikotoksin pada bahan pakan dan pakan ternak tersebut belum membahayakan kesehatan hewan ternak, namun perlu diwaspadai keberadaannya mengingat iklim di Indonesia sangat mendukung untuk pertumbuhan kapang penghasil mikotoksin sekaligus pembentukan mikotoksinnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Kepala Balai Besar Penelitian Veteriner beserta jajarannya yang telah memfasilitasi penelitian ini, juga Kepala Dinas Pertanian Kabupaten Semarang, Wonogiri dan Blera serta Kepala Dinas Pertanian Kota Salatiga atas ijin dan bantuannya dalam pelaksanaan pengumpulan sampel lapang. Ucapan terima kasih juga ditujukan terutama kepada Sdr. Rachmat Firmansyah, SSI di Kelti Toksikologi yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ALI, N, SARDJONO, A. YAMASHITA and T. YOSHIZAWA. 1998. Natural co-occurrence of aflatoxins and *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone) in corn from Indonesia. *Food Addit. Contam.* 15: 377-384.
- BAHRI, S., B. TIESNAMURTI dan R. MARYAM. 1990. Kasus kematian domba akibat pemberian konsentrat yang tercemar deoksinivalenol. *Media Kedokteran Hewan.* 6 (1): 1-8.

- BLANEY, B.J., C.J. MOORE and A.L. TYLER. 1984. Mycotoxins and fungal damaged in maize harvested during 1982 in Far North Queensland. *Aust. J. Agric. Res.* 35: 465-471.
- CHARMLEY, E., H.L. TRENHOLM, B.K. THOMPSON, D. VUDATHALA, J.W.G. NICHOLSON, D.B. PRELUSKY and L.L. CHARMLEY. 1993. Influence of level of deoxynivalenol in the diet of dairy cows on feed intake, milk production, and its composition. *J. Dairy Sci.* 76: 3580-3587.
- CROTEAU, S.M., D.B. PRELUSKY and H.L. TRENHOLM. 1994. Analysis of *Trichothecene* mycotoxins by gas chromatography with electron capture detection. *J. Agric. Food Chem.* 42: 928-933.
- DIAZ, D.E., W.M. HAGLER JR., B.A. HOPKINS, R.A. PATTON, C. BROWNIE and L.W. WHITLOW. 2001. The effect of inclusion of a clay type sequestering agent on milk production of dairy cattle consuming mycotoxins contaminated feeds. Abstract. *J. Dairy Sci.* 84: 1554.
- DESJARDINS, A.E., H.K. MANANDHAR, R.D. PLATTNER, G.G. MANANDHAR, S.M. POLING and C.M. MARAGOS. 2000. *Fusarium* species from Nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1020-1025.
- ERIKSEN, G.S. and H. PETTERSSON. 2004. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114: 205-239.
- GREEN, J.M. 1996. A practical guide to analytical method validation. *Anal. Chemist.* 68: 305A-309A.
- HENRY, M.H. 2006. Mycotoxins in Feeds: CVM's Perspective, Presentation for Risk Management Agency. Division of Animal Feeds, Center for Veterinary Medicine, Food and Drug Administration, August 23, 2006, in Austin, Texas. <http://www.fda.gov/cvm/fdaaustintx823.htm>. [5 Maret 2009].
- HILL, N.S., S.M. NEATE, B. COOPER, R. HORSLEY, P. SCHWARZ, L.S. DAHLEEN, K.P. SMITH, K. O'DONNELL and J. REEVES. 2008. Comparison of ELISA for *Fusarium* visual screening and deoxynivalenol analysis of *Fusarium* head blight for Barley Field Nurseries. *Crop Sci.* 48: 1389-1398.
- KAMIMURA, H., M. NISHIJIMA, K. YASUDA, K. SAITO, A. IBE, T. NAGAYAMA, H. USHIYAMA and Y. NAOL. 1981. Simultaneous detection of several *Fusarium* mycotoxins in cereals, grains, and foodstuffs. *J. Assoc. Anal. Chem.* 64: 1067-1073.
- KIESSLING, K.H., H. PATTERSON, K. SANDHOLM and M. OLSEN. 1984. Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa and rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 1070.
- KIM, J.C., H.J. KANG, D.H. LEE, Y.W. LEE and T. YOSHIZAWA. 1993. Natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins (trichothecenes and zearalenone) in barley and corn in Korea. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 3798-3802.
- MIROCHA, C.J., S.V. PATHRE and C.M. CHRISTENSEN. 1977. Chemistry of *Fusarium* and *Stachybotrys* Mycotoxins. In: *Mycotoxic fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses*. An Encyclopedic Handbook. Vol. I. T.D. WYLLIE and L.G. MOREHOUSE (Eds). Marcell Dekker, Inc. New York.
- OSWEILER, G.D., T.L. CARSON, W.B. BUCK and G.A. VAN GELDER. 1985. *Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology*. 3rd edition, Kendall Hunt Publishing Company. Iowa. pp. 409-442.
- PANDEY, V.V., N.V. KURKURE, D.R. KALOREY and A.G. BHANDARKAR. 2005. Detection of residual T2 toxin in liver and muscle of experimentally toxicated broilers. 17th European Symposium on the Quality of Poultry Meat. Doorwerth. The Netherlands. 23-26 May 2005. Doorwerth. The Netherlands. pp. 170-171
- PLACINTA, C.M., J.P.F. D'MELLO and A.M.C. MACDONALD. 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78: 21-37.
- PRELUSKY, D.B. and H.L. TRENHOLM. 1991. Tissue distribution of deoxynivalenol in swine dosed intravenously. *J. Agric. Food Chem.* 39: 748-751.
- SOKOLOVI, M., V. GARAJ-VRHOVAC and B. IMPRAGA. 2008. T-2 toxin. Incidence and toxicity in poultry. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 59: 43-52.
- SYPECKA Z, M. KELLY and P. BREETON. 2004. Deoxynivalenol and zearalenone residues in eggs of laying hens fed with a naturally contaminated diet: effects on egg production and estimation of transmission rates from feed to eggs. *J. Agric. Food Chem.* 52: 5463-71
- TANGENDAJA, B., S. RACHMAWATI and E. WINA. 2008. Mycotoxin contamination on corn used by feed mills in Indonesia. *Indones. J. Agric. Sci.* 9: 68-76.
- WALKER, F. and B. MEIER. 1998. Determination of the *Fusarium* Mycotoxins Nivalenol, Deoxynivalenol, 3-Acetyldeoxynivalenol on contaminated whole wheat flour by Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Gas Chromatography with Electron Capture Detection. *J. Assoc. Anal. Chem.* 81: 741-748.
- WHITLOW, L.W. and W.M. HAGLER JR. 2002. Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs* 74: 1-10.
- WIDIASTUTI, R. dan R. FIRMANSYAH. 2005. Cemaran Zearalenon dan Deoksinivalenol pada Pakan Sapi dan Babi. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 12-13 September 2005. Puslitbang Peternakan. Bogor. hlm. 968-972.
- YIANNIKOURIS, A. and J-P. JOUANNY. 2002. Mycotoxins in feeds and their fate in animal: A review. *Anim. Res.* 51: 81-99.