

DETEKSI AFLATOKSIN B1 PADA JENIS MAKANAN OLAHAN JAGUNG MENGGUNAKAN *ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA)*

Detection of Aflatoxin B1 in Processed Foods Corn by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Safika¹, Faisal Jamin¹, dan Siti Aisyah²

¹Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: safika@unsyiah.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui konsentrasi AFB1 pada jenis makanan olahan asal jagung yang dipasarkan di Banda Aceh. Pengambilan sampel dilakukan di pasar dan swalayan di Banda Aceh. Deteksi AFB1 pada sampel menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Berdasarkan penelitian, dapat disimpulkan bahwa dari 6 sampel makanan berbahan baku jagung, 5 sampel (83,33%) terkontaminasi AFB1. Walaupun terkontaminasi AFB1 namun semua sampel masih aman dikonsumsi sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan pemerintah yaitu maksimal 20 ppb.

Kata kunci: *Aspergillus*, AFB1, olahan jagung

ABSTRACT

Aflatoxins are a type of mycotoxin product most commonly found in food. Aflatoxin B1 (AFB1) is the most toxic and carcinogenic substance. This study was to determine the concentration of AFB1 in processed foods from corn marketed in Banda Aceh. Sampling was conducted in markets and supermarkets in Banda Aceh. Aflatoxin B1 detection was done by using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Based on the results of research, it can be concluded that from 6 samples of processed foods from corn, 5 samples (83.33%) were contaminated with AFB1. Although contaminated with aflatoxin B1, the food was still safe to be consumed according to the regulation established by the Indonesian Government that has set the maximum level of AFB1 in food is 20 ppb.

Key words: *Aspergillus*, AFB1, processed foods corn

PENDAHULUAN

Salah satu jenis jamur yang banyak di alam adalah *Aspergillus* sp. Genus *Aspergillus* mempunyai lebih dari 200 spesies, dan yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia ada 20 spesies (Yu *et al.*, 2004). *Aspergillus* dapat tumbuh subur pada suhu 10-40° C, pH 5-8, kelembaban 80-90% dengan kadar air 16% sampai 17%. Jamur ini terdapat dimana-mana, sporanya disebarkan oleh angin sehingga dapat mengontaminasi berbagai bahan pangan. Sebagai mikroba kontaminan jika dikonsumsi dapat menyebabkan penyakit yang disebut aspergilosis (Wang dan Liu, 2007).

Akibat lain kontaminasi *Aspergillus* sp. pada bahan makanan adalah kontaminasi mikotoksin yaitu aflatoksin. Aflatoksin adalah hasil dari metabolisme sekunder *Aspergillus*. Terdapat empat jenis aflatoksin yaitu aflatoksin B1, B2, G1, dan G2 yang dihasilkan oleh jamur *Aspergillus flavus* (*A+fla+toxin*), *A. parasiticus* dan *A. nomius* (Horn *et al.*, 2000). Bahan makanan yang sering terkontaminasi aflatoksin adalah jagung, kacang-kacangan, daging, gandum, dan susu (Mishra dan Das, 2003; Didwania dan Joshi, 2013).

Jika terinfeksi aflatoksin pada manusia dan hewan dapat bersifat karsinogen, genotoksik, *immune suppression*, dan pertumbuhan terhambat. Selain itu aflatoksin dapat menurunkan respons imun dan meningkatkan efek infeksi virus hepatitis. Aflatoksin dapat dikonsumsi langsung melalui bahan pangan yang

terkontaminasi aflatoksin atau dapat melalui jalur ternak yang mengonsumsi aflatoksin. Mekanisme masuknya aflatoksin ke dalam tubuh dapat melalui inhalasi, kulit, makanan, dan minuman (Bayman, 1993; Didwania dan Joshi, 2013). Namun AFB1 dapat diekskresikan dari dalam tubuh bersama feses, urin, dan cairan empedu (Smela *et al.*, 2001).

Dari beberapa jenis aflatoksin, aflatoksin B1 (AFB1) yang paling toksik dan bersifat karsinogen yang diklasifikasi dalam kelas 1, sehingga dipakai sebagai ambang batas maksimum aflatoksin dalam bahan pangan dan pakan (Williams *et al.*, 2004). Batasan maksimum aflatoksin yang diberikan *Food and Agriculture Organization* (FAO) pada makanan adalah 30 *part per billion* (ppb), dan susu 0,5 ppb (FAO, 1997). Di Indonesia batas maksimal AFB1 adalah 20 ppb dan total konsentrasi aflatoksin 35 ppb (Dharmaputra *et al.*, 2003).

Menurut penelitian Safika (2008) di Nanggroe Aceh Darussalam menunjukkan makanan tradisional ikan kayu yang diambil di pasar-pasar Banda Aceh dan Lhokseumawe, semua sampel (100%) terkontaminasi AFB1 dengan konsentrasi 0,9-38,7 ppb dan 75% layak dikonsumsi sesuai dengan standar yang ditetapkan, sedangkan pada makanan berbahan baku kacang tanah 86,67% sampel masih aman dikonsumsi sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan pemerintah yaitu maksimal 20 ppb (Aisyah *et al.*, 2014). Tetapi untuk makanan yang berbahan baku jagung belum ada dilakukan pemeriksaan kadar aflatoksin.

MATERI DAN METODE

Isolasi *Aspergillus*

Sampel (masing-masing 10 g) ditimbang dan diblender dengan menambahkan akuades sebanyak 90 ml, kemudian diambil supernatannya. Supernatan ini selanjutnya diencerkan dari 10^{-1} sampai 10^{-5} , dan kontrol. Sebanyak 25 μ l suspensi dari masing-masing pengenceran dan kontrol dituang pada *agar sabouraud dekstroze* (ASD). Biakan ini diinkubasi selama 2-7 hari pada suhu kamar ($25-30^{\circ}$ C) dan diamati masing-masing koloni yang tumbuh. Selain diamati secara makroskopis, yaitu dengan melihat warna koloni pada agar juga diamati secara mikroskopis yaitu seperti bentuk vesikel, ukuran dan bentuk permukaan spora pada pembesaran 10x40 dan 10x100.

Penentuan Konsentrasi AFB1

Penentuan konsentrasi AFB1 pada sampel dilakukan dengan metode *enzym-linked immunosorbant assay* (ELISA) dengan menggunakan kit ELISA yang dikembangkan di Balai Penelitian Veteriner Bogor. Sampel sebanyak 25 g dimasukkan ke dalam blender serta ditambahkan 50 ml metanol:air (60:40). Sampel diblender dan diaduk dengan *shacker* selama 30 menit, setelah itu disentrifus pada 3000 rpm selama 15 menit. Lalu filtratnya disaring dan ditampung sebanyak 1 ml serta ditambahkan 1 ml akuades dan siap dilakukan tes ELISA. Larutan standar AFB1 yaitu 0, 5, 15, dan 45 ppb.

Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi dari *microwell* dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang (λ) 450 nm dan dibaca dalam 10 menit. Konsentrasi aflatoksin ditentukan dengan rumus:

$$\% B/Bo = \frac{\text{Absorbansi dari standar atau sampel}}{\text{Absorbansi dari blanko (0 ppb standar)}} \times 100\%$$

B = Absorbansi standar

Bo = Absorbansi blanko (0 ppb standar)

Analisis Hasil

Hasil pengamatan disajikan secara deskriptif. Konsentrasi AFB1 disajikan dalam bentuk tabel untuk didapatkan proporsi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan pada hari ke-3, sampel yang ditanam pada cawan petri berisi media ASD tumbuh jamur *Aspergillus* (Gambar 1). Secara makroskopis jamur yang tumbuh terlihat koloni berwarna putih, dan berubah menjadi hijau kekuningan setelah membentuk konidia pada hari ke-5 pengamatan (*A. flavus*). Selain itu juga ditemukan *A. niger* dimana terlihat koloni putih dan berubah menjadi coklat agak kehitaman setelah terbentuk konidiospora (7 hari). *Aspergillus parasiticus*, memiliki ciri-ciri koloni berwarna putih dan berubah menjadi hijau lumut setelah hari ke-7. *Aspergillus* juga dapat dibedakan dengan jamur lain secara mikroskopis berdasarkan

bentuk kondiofor yang agak bulat dan kasar, vesikel agak bulat sampai berbentuk batang (Horn *et al.*, 2000).



Gambar 1. Koloni jamur *Aspergillus flavus*

Kontaminasi *Aspergillus*

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 6 sampel makanan berbahan baku jagung yang diambil dari Pasar Aceh dan swalayan-swalayan di Banda Aceh, 2 sampel (33,33%) terkontaminasi jamur *A. flavus*, dengan jumlah yang bervariasi antara $17-50 \times 10^2$ Cfug koloni, 2 sampel (33,33%) terkontaminasi jamur *A. Niger* dan *A. parasiticus*, 1 sampel (16,67%) tidak terkontaminasi *Aspergillus* sp., seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Populasi *Aspergillus flavus* dan jamur lain pada makanan berbahan baku jagung

No	Jenis makanan	<i>A. flavus</i> ($\times 10^2$ cfu/g)	Jamur lain
1	Kacang jagung	50	-
2	<i>Corn flask</i>	-	<i>A. parasiticus</i> (30×10^2 cfu/g), <i>A. niger</i> (3×10^2 cfu/g)
3	Jagung	-	<i>A. parasitiucus</i> (10×10^2 cfu/g)
4	<i>Popcorn</i> jagung	17	-
5	Jagung bulat	21	-
6	<i>Roasted corn</i>	-	-

Konsentrasi AFB1

Dari 6 sampel makanan berbahan baku jagung yang diperiksa, 5 sampel (83,33%) mengandung AFB1, dengan konsentrasi berkisar antara 0,3-11,6 ppb (Tabel 2). Konsentrasi AFB1 pada makanan berbahan baku jagung masih di bawah standar maksimum yang diperbolehkan oleh Pemerintah RI, yaitu di bawah 20 ppb, sehingga konsentrasi AFB1 pada makanan berbahan baku jagung 100% (6 sampel) layak dikonsumsi masyarakat.

Tabel 2. Konsentrasi aflatoksin B1 pada makanan berbahan baku jagung

No	Jenis makanan	Konsentrasi aflatoksin B1 (ppb)
1	Kacang jagung	11,6
2	<i>Corn flask</i>	0,7
3	Jagung	0,3
4	<i>Popcorn</i> jagung	1,4
5	Jagung bulat	1,4
6	<i>Roasted corn</i>	-

Namun menurut penelitian jika AFB1 dikonsumsi dalam kadar yang rendah dan terus menerus akan menyebabkan turunnya respons imunitas dan dalam jangka panjang dapat menyebabkan meningkatnya risiko kanker hati. Risiko kanker hati ini tergantung pada daya tahan tubuh, detoksikasi, umur, gizi, nutrisi, dan tingkat serta lamanya terekspos aflatoksin. Selain itu AFB1 dapat menurunkan respons imun dan meningkatkan efek infeksi virus hepatitis. Risiko kanker pada seseorang yang terinfeksi HBV meningkat sampai 60% ketika orang tersebut terkontaminasi AFB1 (Smela *et al.*, 2001).

Mekanisme masuknya aflatoksin ke dalam tubuh dapat melalui inhalasi, kulit, makanan, dan minuman. Aflatoksin yang masuk ke saluran pencernaan, khususnya AFB1 diabsorpsi oleh usus dan melalui aliran darah akan didistribusi ke organ tubuh. Sebelum didistribusikan dalam plasma darah, sebagian AFB1 bersenyawa dengan protein plasma kompleks. AFB1 yang bebas, didistribusikan ke jaringan tubuh terutama hati, selain itu juga ke paru-paru dan trakea (Bayman dan Cotty, 1993). Kemudian sebagian mengalami biotransformasi dan sebagian diekskresikan. Di hati AFB1 masuk ke dalam sel dan dimetabolisme oleh enzim sitokrom p450 yang mengakibatkan mutasi dalam *deoxyribonucleid acid* (DNA). Mutasi ini disebabkan oleh *G_A T transversion* di kodon 249 pada gen p53 hati. Sehingga mengganggu respirasi di mitokondria, akibatnya terjadi nekrosis sel hati, dan dapat menyebabkan *hepatic carcinoma*. Aflatoksin B1 diekskresikan dari dalam tubuh bersama feses, urin, dan cairan empedu (Smela *et al.*, 2001; Williams *et al.*, 2004).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian, dari 6 sampel makanan berbahan baku jagung 83,33% (5 sampel)

terkontaminasi aflatoksin B1. Walaupun terkontaminasi aflatoksin B1 namun semua sampel masih layak dikonsumsi sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan pemerintah yaitu maksimal 20 ppb.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, S., F. Jamin, dan Safika. 2014. Penentuan Aflatoksin B1 pada makanan olahan kacang tanah dengan menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (Elisa). **J. Ked. Hewan.** 9(1):41-48.
- Bayman, P. and P.J. Cotty. 1993. Genetic diversity in *Aspergillus flavus*: association with aflatoxin production and morphology. **Canadian Journal of Botany.** 71: 23-31.
- Dharmaputra, O.S., A.S.R. Putri, I. Retnowati, dan S. Ambarwati. 2003. *Aspergillus flavus* and aflatoxin in peanuts at various stages of delivery chains in Pati Regency, Central Java. **Report of ACIAR project PHT 1997/017:38.**
- Didwania, N. and M. Joshi. 2013. Mycotoxins: A critical review on occurrence and significance. **Int. J. Pharm. Sci.** 5:3:1014-1019.
- FAO. 1997. Worldwide regulations for mycotoxins 1995-a compendium. **FAO. Food and Nutrition Paper.** No. 64. Rome.
- Horn, B.W., R.L. Greene, R.B. Sorensen, P.D. Blankenship, and J.W. Dorner. 2000. Conidial movement of nontoxigenic *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* in peanut fields following application to soil. **Mycopathologia.** 151:81-92.
- Mishra, H.N. and C. Das. 2003. A review on biological control and metabolism of aflatoxin. **Critical Reviewa in Food Science and Nutrition.** 43(3):245-264.
- Safika. 2008. Korelasi *Aspergillus flavus* dengan konsentrasi Aflatoksin B1 pada ikan kayu. **J. Ked. Hewan.** 2(2):168-167.
- Smela, M.E., S.S. Currier, E.A. Bailey, and J.M. Essigmann. 2001. The chemistry and biology of aflatoxin B(1): from mutational spectrometry to carcinogenesis. **Carcinogenesis.** 22:535-45
- Wang, J. and X. Liu. 2007. Contamination of aflatoxins in different kinds of foods in China. **Biomedical And Environmental Sciences.** 20:483-487
- Williams, J.H., T.D. Phillips, P.E. Jolly, J.K. Stiles, C.M. Jolly, and D. Aggarwal. 2004. Human aflatoxicosis in developing countries: A review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. **Am J Clin Nutr.** 80:1106-22.
- Yu, J., C.A. Whitelaw, W.C. Nierman, D. Bhatnagar, and T.E. ClevelandE. 2004. *Aspergillus flavus* expressed sequence tags for identification of genes with putative roles in aflatoxin contamination of crops. **FEMS Microbiol Lett.** 237(2):333-340.