

## KAPASITAS DAN STABILITAS PENGIKATAN BEBERAPA ADSORBEN AFLATOKSIN ALAMI DI DALAM RUMEN *IN VITRO*

### THE BINDING CAPACITY AND STABILITY OF SEVERAL NATURAL AFLATOXIN ADSORBENTS ON AFLATOXIN B<sub>1</sub> CONTAMINATED FEED IN A RUMEN *IN VITRO* ASSAY

Ika Sumantri<sup>1</sup>, Tridjoko Wisnu Murti<sup>2</sup>, Joseph Boehm<sup>3</sup>, dan Ali Agus<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Ahmad Yani km. 36, Banjarbaru, Indonesia, 70714

<sup>2</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No. 3, Bulaksumur, Yogyakarta, 55281

<sup>3</sup>Institute of Animal Nutrition, Veterinary Medicine University of Vienna, Veterinaerplatz 1, Vienna Austria, 1210

#### INTISARI

Penelitian ini dilaksanakan untuk menguji kapasitas dan stabilitas beberapa adsorben alami dalam mengikat aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) dengan metode *in vitro* yang melibatkan kondisi di dalam rumen. Percobaan *in vitro* dilakukan dengan menggunakan 3 macam adsorben alam (bentonit, zeolit dan karbon aktif) dan satu adsorben produk komersial (CAA). Pengujian dilakukan pada 3 macam medium *in vitro* (aquades steril, cairan rumen dan cairan rumen steril) dan 2 rasio AFB<sub>1</sub>:adsorben (1:1000 dan 1:10.000 yang setara dengan 1000 mg AFB<sub>1</sub>-contaminated feed:1 mg adsorben dan 100 mg AFB<sub>1</sub>-contaminated feed:1 mg adsorben). Inkubasi dilakukan selama 2 jam dengan penggojokan 70 rpm pada suhu 38,5°C menggunakan *shaking incubator*. Medium kemudian disentrifugasi selama 15 menit pada 3500 g. Supernatan diambil untuk dianalisis kadar AFB<sub>1</sub> yang tidak terikat oleh adsorben, sehingga persentase AFB<sub>1</sub> terikat dapat dihitung sebagai peubah kapasitas pengikatan. Presipitat selanjutnya diresuspensi dan diinkubasi kembali. Supernatan yang diperoleh setelah sentrifugasi 3500 g selama 15 menit dianalisis kandungan AFB<sub>1</sub>-nya untuk mendapatkan persentase AFB<sub>1</sub> yang terlepas dari ikatan dengan adsorben untuk mendapatkan data stabilitas pengikatan. Data dianalisis variansi dengan prosedur general linear model rancangan acak lengkap pola faktorial menggunakan SPSS versi 17.0. Hasil memperlihatkan bahwa bentonit memiliki kapasitas pengikatan AFB<sub>1</sub> tertinggi (77,54%) dengan medium aquades. Stabilitas pengikatan tertinggi ditunjukkan oleh CAA (99,78%) yang tidak berbeda dengan stabilitas bentonit (99,38%). Pengikatan AFB<sub>1</sub> secara nyata ( $P < 0,05$ ) dipengaruhi oleh pH medium dengan kapasitas tertinggi diperoleh pada pH medium kurang dari 5,0. Berdasarkan peubah kapasitas dan stabilitas pengikatan serta pH optimum pengikatan dapat disimpulkan bahwa bentonit merupakan adsorben alami yang paling potensial untuk dipergunakan pada ternak ruminansia.

(Kata kunci: Adsorben aflatoksin, Metode *in vitro* rumen)

#### ABSTRACT

The experiment was conducted to study the binding capacity and stability of natural and commercial aflatoxin adsorbents (CAA) in a rumen *in vitro* model. *In vitro* assays were performed using 4 adsorbents (bentonite, zeolite, activated carbon and CAA) in 3 different *in vitro* mediums (sterilized aquadest, rumen fluid, and sterilized rumen fluid) and 2 ratios of AFB<sub>1</sub>:adsorbents (1:1000 and 1:10.000 that were equivalent with 1000 mg AFB<sub>1</sub>-contaminated feed:1 mg adsorbents and 100 mg AFB<sub>1</sub>-contaminated feed:1 mg adsorbents). Flasks containing 75 ml medium, AFB<sub>1</sub>-contaminated feed, and adsorbents were incubated for 2 hours in a shaking incubator at 70 rpm for 2 hours in 38°C. Binding capacity was calculated by the difference to one hundred of the percentage of total AFB<sub>1</sub> recovered in supernatant after centrifugation for 15' at 3500 g and the AFB<sub>1</sub> in the *in vitro* medium prior adsorbent addition. Precipitates were resuspended in mediums and reincubated in shaking incubator. Binding stability was measured by the difference to one hundred of released AFB<sub>1</sub> in supernatant to the amount of bound AFB<sub>1</sub>. Data was analyzed of variance using general linear model procedure of SPSS version 17.0. Results showed that bentonite demonstrates the highest binding capacity (77.54%) in aquadest medium. Bentonite also showed high binding stability (99.38%) that was not different with CAA (99.78%). The binding of AFB<sub>1</sub> was influenced ( $P < 0.05$ ) by pH of medium whereas the highest capacity was obtained in medium with pH lower than 5.0. Based on pH optimum, binding capability and stability it was concluded that bentonite is the most potential aflatoxin adsorbent for ruminant.

(Keywords: Aflatoxin adsorbents, Rumen *in vitro* method)

\* Korespondensi (corresponding author):

Telp. +62 816 4265 120

E-mail: aliagus@ugm.ac.id

## Pendahuluan

Aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) diketahui sebagai senyawa alami yang memiliki efek toksik dan karsinogenik paling tinggi diantara jenis mikotoksin lainnya sehingga dikelompokkan sebagai karsinogen kelompok 1 oleh IARC (Richard, 2007). Sejumlah penelitian membuktikan bahwa ternak perah laktasi yang mengkonsumsi pakan tercemar AFB<sub>1</sub> akan mengekskresikan metabolit turunannya, yaitu Aflatoksin M (AFM), dalam susu dan urin (Coulombe, 1993). AFM<sub>1</sub> memberikan pengaruh toksik dan karsinogenik yang sama seperti halnya AFB<sub>1</sub> (Van Egmond, 1989). Data epidemiologis saat ini menguatkan hipotesis bahwa konsumsi aflatoksin merupakan ko-faktor terjadinya resiko *human hepatocellular carcinoma*, terutama di Afrika sub sahara, Asia Tenggara dan Cina (Liu dan Wu, 2010; Volkel et al., 2011).

Survei terdahulu oleh Ali et al. (1998); Goto et al. (1999); Pitt dan Hocking (2004) memperlihatkan tingginya kasus cemaran dan tingkat cemaran AFB<sub>1</sub> pada bahan pakan di Indonesia. Hal ini diduga berakibat pada tingginya resiko kejadian cemaran AFM<sub>1</sub> di susu segar sebagaimana diperlihatkan dalam survei yang dilakukan oleh Nuryono et al. (2009) yaitu ditemukannya cemaran AFM<sub>1</sub> pada semua sampel susu (100%) yang dianalisis dalam penelitian tersebut. Susu yang terkontaminasi AFM<sub>1</sub> diduga menjadi sumber utama masuknya aflatoksin dari pakan ke dalam rantai pangan, khususnya untuk bayi dan anak-anak (Galvano et al., 1998; Mohammadi, 2011).

Beberapa metode telah dipelajari untuk mendekontaminasi AFB<sub>1</sub> seperti metode fisik, kimiawi maupun biologis namun belum ditemukan langkah yang efektif dan aplikatif untuk mencegah terjadinya transfer residu aflatoksin dari pakan yang telah terkontaminasi senyawa toksik tersebut. Berdasarkan hal itu, fokus penelitian ini lebih terarah pada pencegahan absorpsi aflatoksin pakan di dalam sistem pencernaan ternak (Diaz et al., 2004; Kabak et al., 2006; Moschini et al., 2008; Kolossova et al., 2009).

Beberapa adsorben alami memiliki afinitas tinggi terhadap mikotoksin, seperti karbon aktif, zeolit, aluminosilikat dan bentonit, sehingga diduga dapat mencegah absorpsi aflatoksin pakan di dalam saluran pencernaan ternak yang akan mencegah terjadinya aflatoksikosis pada ternak dan transfer residu aflatoksin ke produk ternak (Kabak et al., 2006; Kolossova et al., 2009). Beberapa penelitian terdahulu telah dilakukan untuk menguji kapasitas dan stabilitas adsorben aflatoksin, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, meskipun demikian sebagian besar studi *in vitro* belum dilakukan mengikuti model pencernaan ternak untuk pengujian *in vivo*

(Kolossova et al., 2009). Hal ini menyebabkan bervariasinya hasil pengujian *in vivo* pada ternak ruminansia jika dibandingkan dengan hasil pengujian secara *in vitro* (Moschini et al., 2008). Penelitian ini bertujuan menguji kapasitas dan stabilitas adsorben dalam mengikat AFB<sub>1</sub> pada pengujian *in vitro* yang melibatkan kondisi di dalam rumen (mikrobia rumen, cairan rumen, agitasi, dan pH rumen) sehingga akan diperoleh adsorben yang potensial untuk dipergunakan sebagai aditif pakan dalam mencegah aflatoksikosis dan transfer residu aflatoksin dari pakan ke produk ternak pada ruminansia.

## Materi dan Metode Penelitian

### Tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Nutrisi Fakultas Peternakan UGM dan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM Yogyakarta.

### Bahan

Dipergunakan 4 adsorben aflatoksin, yaitu 3 adsorben alam (bentonit, zeolit, karbon aktif) dan 1 produk adsorben aflatoksin komersial yang diberi kode CAA (*Comercial Aflatoxin Adsorbent*) dalam penelitian ini. Tiga macam medium *in vitro* yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah aquades steril, cairan rumen non steril, dan cairan rumen steril. Cairan rumen diperoleh dari sapi perah Peranakan Friesian Holstein (PFH) berfistula rumen yang diambil sebelum pemberian pakan pagi hari dan disaring dengan 4 lapis kain linen. Sterilisasi medium dilakukan dengan pemanasan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit.

Sumber AFB<sub>1</sub> adalah dari *naturally AFB<sub>1</sub>-contaminated feed*, yaitu dari inokulasi isolat *Aspergillus flavus* dari medium starter YES (yeast ekstrak dan sukrosa) pada pakan konsentrat broiler (BR I, Japfa Comfeed Indonesia). Inkubasi dilakukan selama 10 hari dalam suasana aerob pada temperatur ruang merujuk pada prosedur yang dilakukan Agus et al. (2010). BR I sumber AFB<sub>1</sub> selanjutnya dianalisis untuk mengetahui kandungan AFB<sub>1</sub>-nya dan dilakukan pencampuran dengan BR I non sumber AFB<sub>1</sub> sehingga diperoleh kandungan bahan sumber AFB<sub>1</sub> adalah 1000 µg AFB<sub>1</sub>/kg bahan. Analisis AFB<sub>1</sub> dilakukan dengan metode ELISA menggunakan ELISA kit Ridascreen® Aflatoxin B<sub>1</sub> 30/15 (R-Biopharm GmbH, Germany).

### Metode

Uji *in vitro* dilakukan pada dua rasio AFB<sub>1</sub>:adsorben, yaitu 1:1000 dan 1:10.000, sehingga didapatkan satuan percobaan adalah 4

adsorben X 3 medium *in vitro* X 2 rasio AFB<sub>1</sub>:adsorben X 3 ulangan. Erlenmeyer diisi dengan 75 ml medium, sumber AFB<sub>1</sub> dan adsorben. Untuk rasio AFB<sub>1</sub>:adsorben=1:1.000 dipergunakan 1000 mg AFB<sub>1</sub>-contaminated feed dan 1 mg adsorben, sedangkan untuk rasio 1:10.000 dipergunakan 100 mg AFB<sub>1</sub>-contaminated feed dan 1 mg adsorben. Erlenmeyer diinkubasi selama 2 jam pada suhu 38,5°C dan digojok dengan kecepatan 70 rpm menggunakan *shaking incubator*. Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah kapasitas dan stabilitas pengikatan AFB<sub>1</sub> pada adsorben, rasio AFB<sub>1</sub>:adsorben, jenis medium *in vitro* serta pH medium *in vitro* yang berbeda. Perhitungan kapasitas pengikatan dan stabilitas adsorben dilakukan dengan mengukur residu AFB<sub>1</sub> di supernatan (*unbound AFB<sub>1</sub>*) dan AFB<sub>1</sub> yang terlepas setelah resuspensi presipitat (*released AFB<sub>1</sub>*) merujuk pada prosedur Moschini *et al.* (2008) sebagai berikut: setelah inkubasi selama 2 jam, medium *in vitro* disentrifugasi selama 15 menit pada 3500 g. Supernatan dianalisis kandungan AFB<sub>1</sub> yang tidak terikat (*unbound*) untuk perhitungan variabel kapasitas pengikatan. Presipitat kemudian diresuspensi dan diinkubasi kembali. Setelah sentrifugasi selama 15 menit pada 3500 g, supernatan diambil untuk dianalisis kandungan AFB<sub>1</sub> yang terlepas dari adsorben (*released*) sebagai dasar perhitungan variabel stabilitas pengikatan. Pada pengamatan pengaruh pH, medium *in vitro* diatur pada kisaran 3 kelompok pH, yaitu: <5,0; antara 5,0-7,5; dan >7,5. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan asam asetat 0,1 M atau NaOH 0,1 M. Data yang diperoleh dianalisis variansi rancangan acak lengkap pola faktorial dengan faktor utama jenis adsorben dan medium sesuai prosedur *General Linear Model* (GLM) menggunakan program SPSS versi 17.0.

## Hasil dan Pembahasan

### Kapasitas pengikatan AFB<sub>1</sub>

Tabel 1 menunjukkan bahwa kapasitas pengikatan AFB<sub>1</sub> tertinggi diperoleh pada penggunaan bentonit sebagai adsorben dengan aquades sebagai medium (77,54%). Hasil penelitian ini mendukung hasil beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan kapasitas tinggi bentonit dalam mengikat AFB<sub>1</sub> yaitu antara 94% hingga 100% (Massimo *et al.*, 1978). Veldman (1992) menemukan bahwa penggunaan bentonit lebih efektif dalam menurunkan *carry over rate* AFB<sub>1</sub> pada sapi perah dibandingkan zeolit.

Analisis variansi memperlihatkan tidak terdapat interaksi antara jenis adsorben dan jenis medium terhadap kapasitas pengikatan AFB<sub>1</sub>. Rasio

maupun jenis medium *in vitro* tidak berpengaruh nyata terhadap kapasitas pengikatan semua jenis adsorben yang diuji. Hasil dari penelitian ini cenderung menunjukkan bahwa kapasitas tertinggi diperoleh pada penggunaan aquades sebagai medium. Penelitian yang dilakukan oleh Jayness *et al.* (2007) memperlihatkan bahwa pada penggunaan adsorben dari kelompok *clay* dan karbon aktif, adsorpsi AFB<sub>1</sub> yang dilarutkan dalam aquades mencapai 100 kali lebih besar dibandingkan AFB<sub>1</sub> yang teradsorpsi dari larutan tepung jagung. Hal ini menjelaskan adsorben kelompok *clay* dan karbon aktif pada aplikasi sebagai aditif pakan tidak efektif menurunkan aflatoksikosis pada ternak, karena pengujian kapasitas adsorben secara *in vitro* pada umumnya menggunakan AFB<sub>1</sub> murni dan aquades atau metanol sebagai larutan ekstraksi dan medium pengujian.

### Stabilitas pengikatan AFB<sub>1</sub>

Stabilitas adsorben dihitung berdasarkan persentase AFB<sub>1</sub> terikat yang tidak terlepas setelah dilakukan reinkubasi dan sentrifugasi. Perhitungan stabilitas tersebut disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 memperlihatkan bahwa CAA memiliki stabilitas pengikatan yang tertinggi yaitu sebesar 99,78% dengan medium cairan rumen. Tidak terdapat perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) pada penelitian ini antara stabilitas CAA dengan bentonit yaitu secara berturut-turut memiliki stabilitas sebesar 99,78% dan 99,38%.

Adsorben aflatoksin komersial yang dipergunakan (CAA) berdasarkan informasi yang diperoleh dari IRMM-CRL Feed additives European Commission (IRMM-JRC-EU, 2010) memiliki bahan aktif dioktahedral montmorillonit sehingga tergolong pada kelompok adsorben bentonit yang telah mengalami proses purifikasi dan peningkatan afinitasnya. Bentonit yang sudah mengalami purifikasi dan peningkatan afinitas memiliki kapasitas pengikatan AFB<sub>1</sub> minimum 100 mg/g (IRMM-JRC-EU, 2010). Penelitian Diaz *et al.* (2002) mempergunakan methanol 1% sebagai medium dan menunjukkan persentase pengikatan AFB<sub>1</sub> oleh bentonit, karbon aktif dan *esterified glucomannan* berkisar antara 95-99%.

Penelitian yang dilakukan oleh Moschini *et al.* (2008) membandingkan pengaruh cairan rumen sebagai medium pengujian *in vitro* beberapa adsorben produk komersial. Penelitian tersebut memperlihatkan bahwa faktor intrinsik cairan rumen mempengaruhi kapasitas dan stabilitas pengikatan adsorben, terutama pada adsorben kelompok  $\beta$ -glukan karena ikatan antara adsorben dan AFB<sub>1</sub> adalah ikatan non kovalen yang bersifat lemah.

Tabel 1. Rerata kapasitas pengikatan AFB<sub>1</sub> pada medium *in vitro*, jenis adsorben serta rasio AFB<sub>1</sub> dan adsorben yang berbeda (%) (*aflatoxin B<sub>1</sub> binding capacity of different adsorbents by different in vitro mediums and ratios between AFB<sub>1</sub> and adsorbents (%)*)

Adsorben ( <i>adsorbents</i> )	Rasio ( <i>ratio</i> )	Medium <i>in vitro</i> ( <i>in vitro medium</i> )		
		Aquades ( <i>aquadest</i> )	Cairan rumen steril ( <i>sterilized rumen fluid</i> )	Cairan rumen ( <i>rumen fluid</i> ) <sup>ns</sup>
Bentonit ( <i>bentonite</i> )	1:1.000	70,19±3,59 <sup>b</sup>	69,83±11,55 <sup>ab</sup>	61,43±12,25
	1:10.000	77,54±0,43 <sup>b</sup>	75,32±2,80 <sup>b</sup>	70,98±8,69
Zeolit ( <i>zeolit</i> )	1:1.000	72,18±1,69 <sup>b</sup>	59,47±11,89 <sup>ab</sup>	66,33±6,38
	1:10.000	76,56±2,91 <sup>b</sup>	67,71±16,15 <sup>ab</sup>	71,84±3,70
Karbon aktif ( <i>activated carbon</i> )	1:1.000	55,32±5,45 <sup>ab</sup>	55,58±9,64 <sup>ab</sup>	59,77±9,58
	1:10.000	51,07±27,10 <sup>ab</sup>	65,65±5,42 <sup>ab</sup>	59,89±15,25
CAA ( <i>comercial aflatoxin adsorbent</i> )	1:1.000	37,99±19,88 <sup>a</sup>	47,89±12,27 <sup>a</sup>	63,41±6,28
	1:10.000	56,64±18,01 <sup>ab</sup>	54,34±23,42 <sup>ab</sup>	61,03±7,43

<sup>a,b</sup> Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan ( $P < 0,05$ ) (*different superscripts at the same column indicate significant differences ( $P < 0,05$ )*).

<sup>ns</sup> tidak menunjukkan perbedaan (*non significant*).

Tabel 2. Rerata stabilitas pengikatan AFB<sub>1</sub> pada medium *in vitro*, jenis adsorben serta rasio AFB<sub>1</sub> dan adsorben yang berbeda (%) (*aflatoxin B<sub>1</sub> binding stability of different adsorbents by different in vitro mediums and ratios between AFB<sub>1</sub> and adsorbents (%)*)

Adsorben ( <i>adsorbents</i> )	Rasio ( <i>ratio</i> )	Medium <i>in vitro</i> ( <i>in vitro medium</i> )		
		Aquades ( <i>aquadest</i> )	Cairan rumen steril ( <i>sterilized rumen fluid</i> )	Cairan rumen ( <i>rumen fluid</i> )
Bentonit ( <i>bentonite</i> )	1:1.000 <sup>ns</sup>	99,73±0,15 <sup>c</sup>	99,37±0,42 <sup>b</sup>	99,38±0,18 <sup>b</sup>
	1:10.000 <sup>ns</sup>	91,14±0,68 <sup>a</sup>	88,13±6,25 <sup>a</sup>	91,08±1,59 <sup>a</sup>
Zeolit ( <i>zeolit</i> )	1:1.000	99,33±0,18 <sup>ck</sup>	99,04±0,26 <sup>bk</sup>	99,77±0,01 <sup>bl</sup>
	1:10.000	93,94±1,05 <sup>bk</sup>	99,34±0,32 <sup>bl</sup>	98,90±0,98 <sup>bl</sup>
Karbon aktif ( <i>activated carbon</i> )	1:1.000	99,51±0,06 <sup>cl</sup>	99,74±0,03 <sup>bm</sup>	99,38±0,16 <sup>bk</sup>
	1:10.000 <sup>ns</sup>	99,40±0,47 <sup>c</sup>	99,49±0,12 <sup>b</sup>	99,28±0,21 <sup>b</sup>
CAA ( <i>comercial aflatoxin adsorbent</i> )	1:1.000 <sup>ns</sup>	98,15±1,49 <sup>c</sup>	99,32±0,03 <sup>b</sup>	99,78±0,15 <sup>b</sup>
	1:10.000 <sup>ns</sup>	99,33±0,25 <sup>c</sup>	99,17±0,91 <sup>b</sup>	99,48±0,13 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c</sup> Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan ( $P < 0,05$ ) (*different superscripts at the same column indicate significant differences ( $P < 0,05$ )*).

<sup>k,l,m</sup> Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan ( $P < 0,05$ ) (*different superscripts at the same row indicate significant differences ( $P < 0,05$ )*).

<sup>ns</sup> tidak menunjukkan perbedaan (*non significant*).

Hasil dalam penelitian ini memperlihatkan stabilitas ikatan yang tinggi antara bentonit dan AFB<sub>1</sub> dalam cairan rumen. Hal ini mendukung hasil pengujian pada peubah kapasitas pengikatan yang juga memperlihatkan tingginya kapasitas pengikatan AFB<sub>1</sub> oleh bentonit pada medium cairan rumen.

### Pengaruh pH medium

Berdasarkan kapasitas dan stabilitas pengikatan aflatoxin yang terbaik pada pengujian sebelumnya maka pengamatan pengaruh pH dilakukan dengan menggunakan bentonit. Pengujian pengaruh pH medium terhadap kapasitas dan stabilitas adsorben dilakukan pada tiga kisaran pH

berdasarkan asumsi kisaran pH di dalam saluran pencernaan ruminansia, yaitu pH rumen (antara 5,0-7,5), pH abomasum (kurang dari 5,0) dan pH usus halus (lebih dari 7,5).

Kapasitas pengikatan adsorben secara nyata ( $P < 0,05$ ) dipengaruhi oleh pH medium *in vitro* dengan kapasitas tertinggi diperoleh pada pH medium kurang dari 5,0. Perbedaan pH medium tidak berpengaruh nyata terhadap stabilitas pengikatan AFB<sub>1</sub> ( $P > 0,05$ ). Stabilitas terendah diperoleh pada pH kurang dari 5,0 (96,10%) dan meningkat dengan naiknya pH medium, yaitu tertinggi pada pH medium lebih dari 7,5 (99,59%). Ikatan ion yang terjadi pada adsorben kelompok *clay*, seperti bentonit, akan sangat dipengaruhi oleh kondisi pH

Tabel 3. Pengaruh pH terhadap kapasitas dan stabilitas bentonit dalam mengikat AFB<sub>1</sub> (*the effect of pH of medium on the binding capacity and stability of bentonit*)

Kisaran pH medium (pH range of medium)	Peubah yang diamati ( <i>observed variable</i> )	
	Kapasitas pengikatan (%) ( <i>binding capacity (%)</i> )	Stabilitas pengikatan (%) ( <i>binding stability (%)</i> ) <sup>ns</sup>
< 5,0	74,36±3,35 <sup>b</sup>	96,10±4,48
5,0-7,5	63,66±14,96 <sup>ab</sup>	97,58±3,79
> 7,5	57,51±9,70 <sup>a</sup>	99,59±0,21

<sup>a,b</sup> Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ) (*different superscripts at the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ )*).

<sup>ns</sup> tidak berbeda nyata (*non significant*).

medium. Afinitas adsorben pada umumnya melemah dengan kenaikan pH medium meskipun beberapa penelitian lain memperlihatkan tidak adanya pengaruh temperatur dan pH terhadap kapasitas pengikatan (Moschini *et al.*, 2008). IRMM-JRC-EU (2010) menyarankan penggunaan bentonit pada medium dengan pH berkisar antara 5,0 hingga 7,0.

Pada saluran digesti ruminansia, pH normal bervariasi sesuai dengan organ digesti yang dilewati, yaitu pada kisaran 6,0-7,0 di rumen, kurang dari 2,0 di abomasum dan lebih dari 7,0 di usus halus (Moran, 2005). Hasil ini memperlihatkan bahwa bentonit, yang memiliki kapasitas pengikatan tertinggi dibanding adsorben yang diuji lainnya, diharapkan dapat efektif dipergunakan sebagai aditif pakan untuk mencegah aflatoksikosis karena kapasitas pengikatan maksimum berada pada kisaran pH rumen-abomasum.

### Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini yaitu jenis medium *in vitro* tidak mempengaruhi kapasitas pengikatan adsorben. Adsorben dengan kapasitas pengikatan tertinggi diperlihatkan pada adsorben bentonit dengan medium aquades dan cenderung menurun pada penggunaan medium cairan rumen steril dan non steril. Kapasitas pengikatan AFB<sub>1</sub> dipengaruhi oleh pH medium *in vitro* dan kapasitas tertinggi diperoleh pada pH kurang dari 5,0. Hasil penelitian ini memperlihatkan bentonit memiliki potensi yang paling baik sebagai adsorben aflatoksin untuk ternak ruminansia.

### Ucapan Terima Kasih

Terima kasih dan penghargaan kami sampaikan kepada PT INDOFOOD SUKSES MAKMUR, Tbk melalui PROGRAM INDOFOOD RISET NUGRAHA 2011 yang telah mensponsori pelaksanaan penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Agus, A., Y.B. Maryudhani, Yuniarta, S. Wedhastri and Nuryono. 2010. Production of crude Aflatoxin B<sub>1</sub> using different isolates and substrates. In: Abstracts of 32<sup>nd</sup> Mycotoxin Workshop, Lyngby, Denmark, pp. 130.
- 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(4): 377-384.
- Coulombe, R.A. 1993. Symposium: Biological action of mycotoxins. *J. Dairy Sci.* 76: 880-891
- Diaz, D.E., W.M. Hagler Jr., B.A. Hopkins and L.W. Whitlow. 2002. Aflatoxin binders I: *In vitro* binding assay for aflatoxin B<sub>1</sub> by several potential sequestering agents. *Mycopathologia* 156: 223-226.
- Diaz, D.E., W.M. Hagler, J.T. Blackwelder, J.A. Eve, B.A. Hopkins, K.L. Anderson, F.T. Jones and L.W. Whitlow. 2004. Aflatoxin binders II: reduction of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia* 157: 233-241.
- Galvano, F., V. Galofaro, A. De Angelis, M. Galvano, M. Bonagnanno and G. Galvano. 1998. Survey of occurrence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in dairy products marketed Italy. *J. Food Prot.* 61:738-741.
- Goto, T., E. Ginting, S.S. Antarlina, J.S. Utomo, Y. Ito and S. Nikkuni. 1999. Aflatoxin contamination and fungi isolated from Indonesian agricultural commodities. In: Proceeding of International Symposium of Mycotoxicology, Chiba, Japan. Pp. 211-215.
- IRMM-JRC-EU. 2010. CRL Evaluation Report on Mycofix® Secure. CRL for Feed Additive-IRMM, Geel, Belgium.
- Jaynes, W.F., R.E. Zartman and W.H. Hudnall. 2007. Aflatoxin B<sub>1</sub> adsorption by clays from

- water and corn meal. *Applied Clay Science* 36: 197–205.
- Kabak, B., A.D.W. Dobson and I. Var. 2006. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46 (8): 593-619.
- Kolossova, A., J. Stroka, A. Breidbach, K. Kroeger, M. Ambrosio, K. Bouten and F. Ulberth. 2009. Evaluation of the effect of mycotoxin binders in animal feed on the analytical performance of standardised methods for the determination of mycotoxins in feed. JRC Scientific and Technical Reports. European Commission JRC-IRMM, Luxembourg.
- Liu, Y. and F. Wu. 2010. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. *Environmental Health Perspectives* 118 (6): 818-824.
- Massimo, N., J. Remacle and J.L. Ramaut. 1978. The role of adsorption in the elimination of aflatoxin B<sub>1</sub> from contaminated media. *European Journal of Applied Microbiology* 6: 101–105.
- Mohammadi, H. 2011. A review of Aflatoxin M<sub>1</sub>, Milk, and Milk products. In: *Aflatoxins-Biochemistry and Molecular Biology*. R. G. Guevara-Gonzalez (ed.) Intech, Rijeka Croatia. Pp. 397-414.
- Moran, J. 2005. *Tropical Dairy Farming: Feeding Management for Small Holder Dairy Farmers in the Humid Tropics*. Landlink Press CSIRO Publishing. Collingwood Australia.
- Moschini, M., A. Gallo, G. Piva and F. Masoero. 2008. The effects of rumen fluid on the *in vitro* aflatoxin binding capacity of different sequestering agents and *in vivo* release of the sequestered toxin. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 147: 292-309.
- Nuryono, N., A. Agus, S. Wedhastri, Y.B. Maryudani, F.M.C. Sigitsetyabudi, J. Boehm and E. Razzazi-Fazeli. 2009. A limited survey of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk from Indonesia by ELISA. *Food Control* 2: 721-724.
- Pitt, I.I. and A.D. Hocking. 2004. Current mycotoxin issues in Australia and Southeast Asia. In: *Meeting the Mycotoxin Menace*. D. Barug, H. P. van Egmond, R. Lopez-Garcia, T. van Ossenbruggen, and A. Visconti (eds.). Wageningen Academic Pub., the Netherlands. Pp. 69-80.
- Richard, J.L. 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicosis: An overview. *International Journal of Food Microbiology* 11: 3-10.
- van Egmond, H.P. 1989. Aflatoxin M<sub>1</sub> : occurrence, toxicity, regulation. In: *Mycotoxin in Dairy Products*. H.P. van Egmond (ed.). Elsevier Applied Science, London. Pp. 11-55.
- Veldman, A. 1992. Effect of sorbentia on carry-over of aflatoxin from cow feed to milk. *Milchwissenschaft* 47: 777-780.
- Volkel, I., E. Schroer-Merker and C.P. Czerny. 2011. The carry-over of mycotoxins in products of animal origin with special regards to its implications for the European food safety legislation. *Food and Nutrition Science* 2: 852-867.