

TINGKAT KEJADIAN MIKOTOKSIN PADA MAKANAN BAYI ASAL INDONESIA¹⁾

(The Incidence of Mycotoxin in Baby Food from Indonesia)

Ira Ramadhani, Mirnawati Sudarwanto²⁾, I Wayan Teguh Wibawan²⁾, dan Ewald Usleber^{2,3)}

ABSTRACT

Fifty-five samples of baby food from Indonesia have been studied to detect incidence of mycotoxin using direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). From this research, it was found 31 samples positive ochratoxin A (OCA) (56.36%), 11 samples positive deoxynivalenol (DON) (20%), 4 samples positive aflatoxin total (7.27%) and 3 samples positive zearalenone (ZON) (5.45%). The average levels of contamination of DON, ZON and OCA were still below international maximum standards and guidelines of some country for mycotoxin. However the average contamination of aflatoxin was higher than guidelines of some countries. ELISA methods that been used to detect DON and aflatoxin total was double antibody, and the second antibody was monoclonal antibody that specific to detect that two types of mycotoxin. The antibody that been used in ZON and OCA was polyclonal antibodies.

Key words: baby food, ELISA, mycotoxin, contamination, standars, antibodies

PENDAHULUAN

Mikotoksin merupakan (suatu) hasil metabolit sekunder dari beberapa genus kapang, seperti *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., dan *Fusarium* spp. Kepentingan utama dari mikotoksin ini karena jarang menimbulkan gejala akut seperti yang disebabkan bakteri tetapi lebih bersifat, karsinogenik, teratogenik, dan estrogenik. Efek farmakologis pada manusia bergantung pada kondisi tubuh, umur, dan jumlah atau banyaknya mikotoksin yang terkonsumsi. Berdasarkan hal tersebut, golongan usia muda atau bayi merupakan golongan yang paling rawan apabila mereka terpapar mikotoksin sejak dini. Produk makanan bayi sendiri dapat terdiri dari berbagai macam bahan pangan yang rawan terkontaminasi kapang penghasil mikotoksin. Di Indonesia tidak ditemukan suatu standar maksimum yang jelas untuk makanan bayi, yang ada hanya standar maksimum aflatoxin pada produk asal hewan (SNI, 2000), yaitu daging (0.02 mg/kg), telur (0.02 mg/kg) dan telur (0.001 mg/kg).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan mikotoksin dalam hal ini mikotoksin deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZON), ochratoxin A (OCA), dan aflatoxin pada makanan bayi di Indonesia dan pengembangan teknik *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk mendeteksi mikotoksin pada makanan bayi tersebut.

¹⁾ Bagian dari tesis penulis pertama, Program Studi Ilmu Ekonomi Pertanian, Sekolah Pascasarjana, IPB

²⁾ Berturut-turut adalah Ketua dan Anggota Komisi Pembimbing

³⁾ Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde Milchwissenschaften der Justus-Liebig-Universität, Giessen

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde Milchwissenschaften der Justus-Liebig-Universität Giessen, Jerman, pada bulan Mei sampai dengan Agustus 2003.

Bahan dan Alat

Bahan yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah sampel makanan bayi (*baby food*), Anti-Maus IgG, 2% Casein-PBS (phosfat buffer serum) (Sigma C-8654), MAK-DON (*monoklonalem antikörper deoxynivalenol*), standard DON, konjugat DON HRP (*horseradish peroksidase*) (1.35.000), larutan 10% Methanol-PBS, Ethylacetat, larutan PBS, ZON-AS (anti serum) B 37 1 4000, standar ZON, larutan 84% Acetonitril-adedst, larutan 5% Acetonitril-PBS, konjugat ZON-oxim-HRP (1:150 000), larutan PBS, OCA-Antiserum 164-Pool 1 6000, standar OCA, larutan 0 13 molar NaHCO₃, larutan HCl 1%, Diclormethan, larutan 1% Tween 20 (Sigma P 1379), larutan 0 13 molar NaHCO₃, konjugat OA-HRP (1:150 000), aflatoxin total kit dari RIDASCREEN® (r-biophram), larutan 70% methanol-PBS larutan H₂O₂, TMB (*tetramethyl benzidine*) (Sigma T 2885), dan larutan H₂SO₄ 1 Molar.

Alat yang dibutuhkan untuk pengujian ini adalah *stirer magnet* (Heidolph MR 3001), *vortex* (vibrofix VF 1 Electronic Janke&Kunkel IKA® Labortechnik), gelas piala 50 ml, mikro pipet (0,5 - 10µ, 10-100µ, 100-1000µ Eppendorf Gerätebau GmbH), magnet, pipet (5, 10, dan 20 ml), balon pipet, sentrifuge (Heraeus-Christ GmbH), evaporation, *ultraschallbaid* (Bandeln Sonorex TK 52), koiben bulat dengan penutup, *stomacher*, plastik *stomacher*, kertas saring (diameter 90mm No. 595.5 Millipore Corp.), saringan kaca, tabung reaksi, ELISA plate (ImmunoPlate I MaxiSorp Nunc GmbH), alat penghisap debu untuk ELISA, dan ELISA reader (SLT-ATC, SLT-Labinstruments software "Ridasoft®")

Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu tahap pertama melakukan survey dan pengambilan sampel makanan bayi di Indonesia dalam hal ini dipilih 5 daerah (Bogor, Jakarta, Bandung, Madiun, dan Surabaya), dan tahap kedua melakukan uji ELISA mikotoksin terhadap makanan bayi yang diambil.

Survei Lapangan

Pada tahap ini dilakukan pendataan terhadap makanan bayi di Indonesia meliputi bentuk kemasan, bobot tiap kemasan, rasa, kelengkapan label, kandungan (isi), tanggal kadaluarsa, kode produksi, dan macam produk makanan bayi (biskuit, bubur, nasi tim, bubur susu).

Pengambilan Sampel Makanan Bayi

- 1) Sampel yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah 55 buah makanan bayi

- 2) Sampel yang ada terdiri dari 36 buah produk bubur bayi, 12 buah biskuit bayi, 4 buah bubur bayi lanjutan, dan 3 buah bubur tim instan.
- 3) Kriteria dari makanan bayi adalah untuk umur 4-9 bulan.
- 4) Produk makanan bayi berasal dari berbagai macam pabrik di Indonesia dengan kriteria pembuatan makanan bayi tersebut dilakukan di Indonesia, dihindari makanan bayi yang hanya mengalami pengepakan di Indonesia tetapi pembuatan dilakukan di luar Indonesia.
- 5) Setiap sampel makanan bayi yang diambil mempunyai bobot minimum 100 gram, dan terbungkus rapi dalam pengepakannya (tidak rusak/cacat).

Uji ELISA

Teknik ELISA yang digunakan adalah metode langsung kompetisi. Metode ini membutuhkan waktu relatif lebih singkat dibandingkan dengan metode tidak langsung. Pada metode ini antibodi dilapiskan pada *plate* ELISA (bahan padat). *Plate* kemudian diinkubasi baru setelah itu dilakukan pelapisan sampel/standar dan toksin enzim-konjugat. Inkubasi dari sampel/standar dan toksin-enzim konjugat akan memberikan kesempatan untuk berkompetisi antara toksin dan toksin yang diberi label (*labelled toxin*) untuk berikatan dengan bagian antibodi yang terbatas. Pencucian dilakukan untuk membuang bagian-bagian yang tidak terikat dan jumlah dari ikatan toksin-enzim konjugat diukur dengan melakukan inkubasi dari larutan substrat. Warna yang tampak diukur secara spektrofotometrikal, yang menunjukkan konsentrasi dari toksin (Anonim, 2002).

Analisis Statistik

Analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah statistik deskriptif, yaitu dengan menyajikannya dalam bentuk tabel dan grafik. Statistik deskripsi adalah bidang statistik yang membicarakan cara atau metode mengumpulkan, menyederhanakan dan menyajikan data sehingga bisa memberikan informasi (Mattjik dan Sumertajaya, 2002).

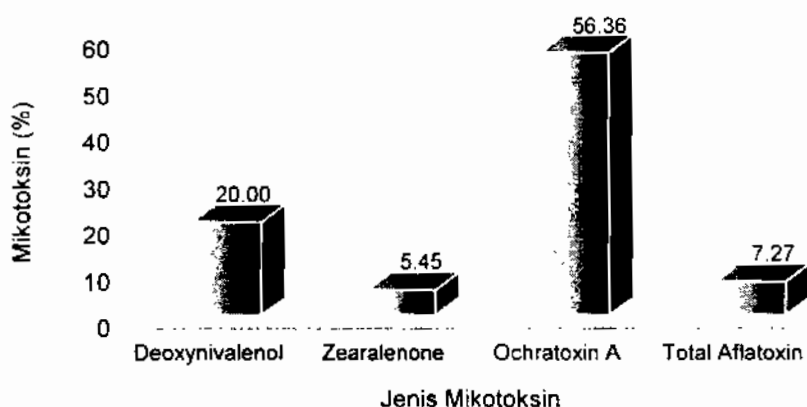
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji ELISA Mikotoksin pada Makanan Bayi

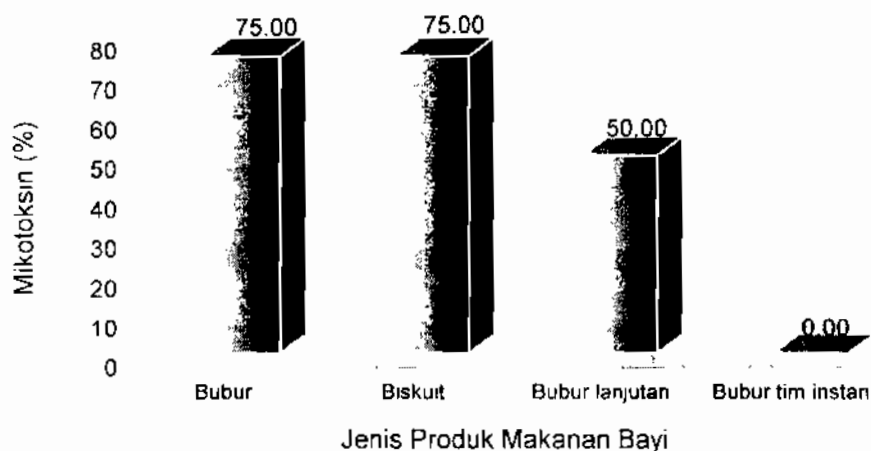
Dari hasil uji ELISA terhadap 55 sampel makanan bayi terdapat 20% sampel mengandung deoxynivalenol, zearalenone sebanyak 5.45%, ochratoxin A 56.36% sedangkan total aflatoxin sebesar 7.27%. Mikotoksin total tertinggi ditemukan pada makanan bayi jenis biskuit dan bubur, yaitu dari 12 produk biskuit 9 di antaranya mengandung mikotoksin (75%), sedangkan pada bubur dari 36 sampel yang diperiksa 27 di antaranya (75%) mengandung mikotoksin. Pada produk bubur bayi lanjutan hanya 2 sampel yang positif mengandung mikotoksin dari 4 sampel yang diperiksa (50%) dan tidak ditemukan sampel yang positif dari 3 sampel produk bubur tim instan. Secara umum hasil analisis terhadap 55 sampel makanan bayi dapat terlihat pada Gambar 1 dan 2.

Uji Deoxynivalenol

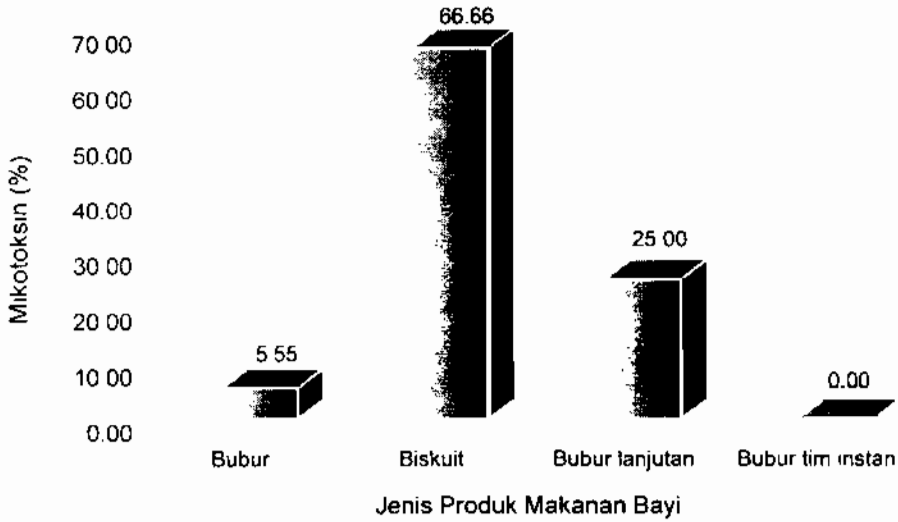
Persentase deoxynivalenol sendiri untuk setiap produk makanan bayi adalah 2 positif dari 36 sampel (5.55%) pada bubur bayi, 8 positif dari 12 sampel biskuit bayi (66.66%), 1 sampel positif dari 4 sampel bubur bayi lanjutan (25%), sedangkan tidak ditemukan deoxynivalenol pada bubur tim (Gambar 3). Nilai rata-rata dari tingkat kesesuaian (*recovery rate*) deoxynivalenol adalah 88.4% dengan koefisien variasi (*variasian koefisien = vk*) 21.2% dari jumlah 10 ($n=10$). DON sendiri dihasilkan oleh kapang grup *Fusarium* yang umum terdapat di seluruh dunia. Kapang *Fusarium* bersifat patogen pada tanaman dan induk semang utamanya adalah tanaman ber biji kecil, jagung dan kentang. Kapang ini dapat menyebabkan *seedling blights*, *root rots*, *crownrots*, *leaf blights*, *head blights*, dan *head* dan *cob rot* (Eriksen and Alexander, 1998).



Gambar 1. Persentase kejadian kontaminasi mikotoksin pada makanan bayi.



Gambar 2. Persentase kejadian mikotoksin berdasarkan jenis produk makanan bayi



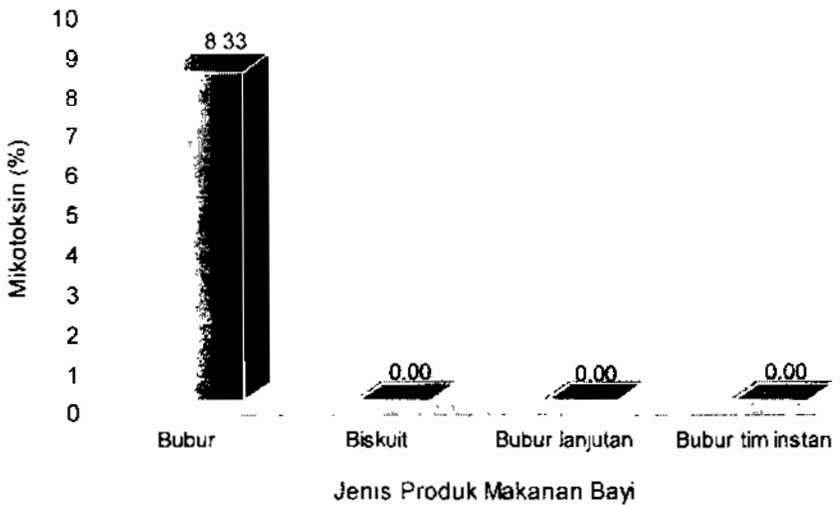
Gambar 3 Persentase kontaminasi deoxynivalenol berdasarkan jenis produk makanan bayi

Deoxynivalenol sendiri merupakan salah satu mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan manusia, untuk itu telah ditetapkan batas maksimum toleransi konsumsi DON per hari (TDI, *total daily intake*). Salah satu lembaga yang menetapkan batas tersebut adalah *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA). JECFA menetapkan batas TDI untuk DON sebesar 1 µg/kg bobot badan. Selain itu European Commission, Scientific Committee on Food juga menetapkan *temporary tolerable daily intake* (TTDI) sebesar 1 µg/kg bobot badan (Codex, 2003). Pada dasarnya makanan bayi yang terkontaminasi oleh DON mempunyai bahan dasar sereal baik dalam bentuk gandum ataupun dalam bentuk beras. Selain itu kontaminasi juga dapat melalui produk pertanian kacang-kacangan seperti kacang hijau yang umum terdapat pada makanan bayi. DON sendiri dapat dikatakan sebagai salah satu mikotoksin yang umumnya mengkontaminasi hasil pertanian terutama sereal dan kacang-kacangan. Kontaminasi DON berkisar 18.8-375.4 µg/kg dengan kontaminasi tertinggi terdapat pada biskuit bayi sedangkan terendah pada bubur bayi. Nilai rata-rata dari kontaminasi DON adalah 143.25 µg/kg.

Walaupun kontaminasi DON dapat terdeteksi pada makanan bayi, konsentrasinya tidak tergolong tinggi. Menurut standar FDA (*Food and Drug Administration*) dari Amerika Serikat, kadar maksimum DON pada produk akhir olahan gandum adalah 1µg/gram (1ppm) atau 1000 µg/kg (Boutrif and Canet, 1998). Eropa Commission (EC) atau European Union (EU) dalam hal ini menyarankan standar maksimum dari DON adalah 500 µg/kg (500 ppb) (Codex, 2003) untuk produk makanan berbahan dasar sereal.

Uji Zearalenone

Secara keseluruhan sampel positif yang mengandung ZON hanya terdapat pada produk makanan bayi berupa bubur bayi (8,33%) dan tidak ditemukan makanan bayi lainnya (Gambar 4). Hasil uji ELISA terhadap ZON nilai rata-rata tingkat kesesuaian adalah 107,9%, dengan $vk=17.2$ ($n=4$). Secara umum kontaminasi ZON terdapat pada hasil pertanian sereal secara luas, terutama pada daerah bertemperatur sedang dan hangat. Dari suatu hasil survey terhadap 500 sampel sereal dari 19 negara, terdapat 44% di antaranya positif mengandung ZON dengan nilai rata-rata kontaminasi sebesar $45 \mu\text{g ZON/kg}$ (Withanage *et al.*, 2001).



Gambar 4. Persentase kontaminasi zearalenone berdasarkan jenis produk makanan bayi

Kontaminasi dari ZON selain dari hasil pertanian juga dapat melalui hasil peternakan. ZON sendiri dapat diekskresikan bentuk metabolitnya dalam susu, yaitu α zearalenol, atau dapat juga terdapat pada telur dan terakumulasi pada kuning telur baik dalam bentuk zearalenone atau metabolitnya (Galtier, 1998).

Pada makanan bayi, kontaminasi dari ZON dapat melalui tanaman kacang-kacangan (kacang hijau), beras ataupun susu yang terdapat pada produk bubur bayi tersebut. ZON sendiri berdasarkan penelitian ini, hanya mengkontaminasi produk makanan bayi yang berupa bubur bayi dengan bahan dasar susu, kacang hijau, dan beras.

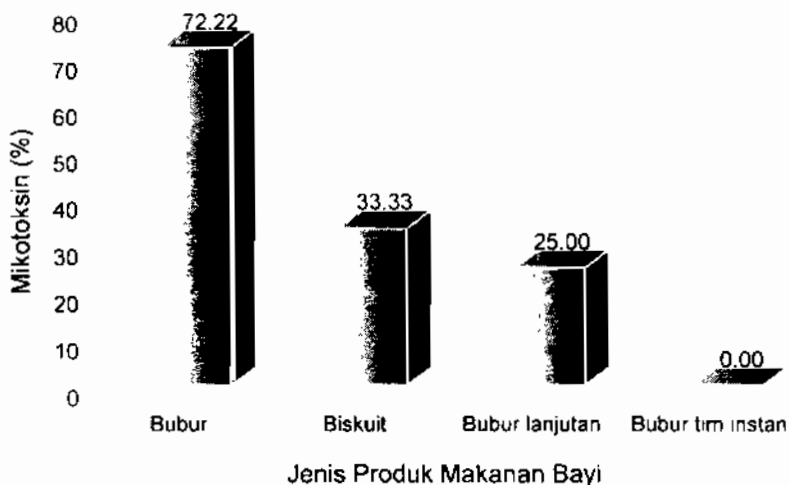
Belum terdapat suatu standar maksimum internasional baik dari FDA maupun dari EU untuk ZON, tetapi beberapa negara telah menetapkan garis pedoman masing-masing untuk ZON. Rata-rata kontaminasi dari ZON pada makanan bayi adalah $7.71 \mu\text{g/kg}$ ($n=3$) berkisar $6.68-8.17 \mu\text{g/kg}$, konsentrasi tersebut masih berada di bawah ketentuan beberapa negara terhadap ZON. Kadar ZON pada makanan bayi asal Indonesia masih rendah, tetapi

keberadaannya sangat membahayakan kesehatan. Seperti yang kita ketahui karena ZON mempunyai sifat estrogenik.

The Nordic Working Grup menetapkan tTDI bagi ZON terlihat 0.1 µg/kg bobot badan (Eriksen and Alexander, 1998) JECFA menetapkan *provisional tolerable maximum daily intake* (PMTDI) sebesar 0.5 Ug/kg bobot badan dan EU menetapkan TDI sebesar 0.2 Ug/kg bobot badan (Anonim, 2003^a).

Uji Ochratoxin A

Dari uji ELISA terhadap Ochratoxin A (OCA), terlihat bahwa toksin ini kontaminasinya tertinggi pada makanan bayi asal Indonesia. Terdapat 31 sampel positif mengandung OCA dari 55 sampel yang ada (56.36%). Berdasarkan produk makanan bayinya sendiri, bubur bayi merupakan produk makanan bayi yang paling tinggi kontaminasi OCA, yaitu sebanyak 58.3%. Pada biskuit bayi, kontaminasi OCA adalah 33.33%, pada bubur bayi lanjutan 25% dan tidak ditemukan adanya kontaminasi OCA pada bubur tim. Persentase kontaminasi OCA pada makanan bayi dapat dilihat pada gambar 5. Tingkat kesesuaian dari OCA rata-ratanya adalah 106.7 % dengan $vk=15.5$ ($n=8$).



Gambar 5. Persentase kontaminasi ochratoxin A berdasarkan jenis produk makanan bayi

OCA merupakan salah satu toksin dengan penyebaran yang luas, umumnya toksin ini mengkontaminasi tanaman untuk pakan hewan ternak atau tanaman yang digunakan untuk memproduksi tepung bagi konsumsi manusia. Toksin OCA dapat memasuki sirkulasi enterohepatik dan dapat dikeluarkan atau diserap kembali. OCA juga dapat menempel pada fraksi albumin dalam darah sehingga bisa bertahan pada jaringan hewan bahkan pada daging untuk beberapa periode waktu tertentu (Nitsch *et al.*, 2003). Toksin ini juga tidak dapat dihancurkan secara sempurna selama proses dan pemasakan makanan (FDA, 2003). Toksin OCA juga dapat ditemukan pada susu. Kemampuan dari toksin ini untuk

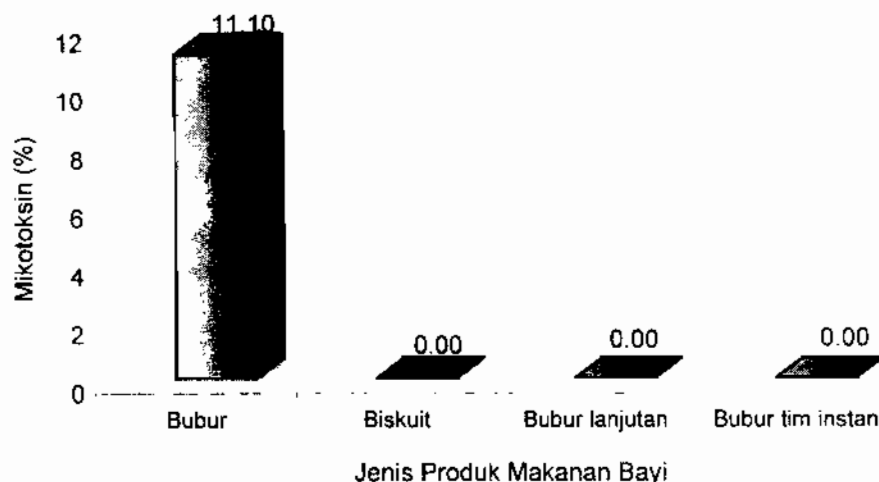
mengkontaminasi makanan bayi baik dari produk pertanian maupun dari hewani merupakan salah satu penyebab paling tingginya tingkat kontaminasi OCA pada makanan bayi asal Indonesia.

Pada dasarnya belum mempunyai standar maksimum OCA dari FDA pada bahan pangan untuk konsumsi manusia, tetapi JEFCA telah menetapkan TDI untuk toksin ini yaitu 1.2-14 ng/kg bobot badan dan *provisional tolerable weekly intake* (PTWI) sebesar 100 ng/kg bobot badan (Anonim, 2003^b). Menurut standar EU, batas maksimum untuk bahan pangan serelia yang langsung dikonsumsi oleh manusia adalah 5µg/kg (Rosner, 1998). Kontaminasi dari OCA sendiri pada makanan bayi asal Indonesia masih dapat dikatakan berada di bawah standar EU maupun standar beberapa negara.

IARC (*International Agency for Research on Cancer*) telah menetapkan OCA dalam grup 2 B, yaitu OCA sebagai agen yang mungkin bersifat karsinogenik pada manusia (Castegnaro and McGregor, 1998).

Uji Total Aflatoxin

Pada uji total aflatoxin menggunakan RIDASCREEN ®, kontaminasi total aflatoxin (aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, dan M₁) hanya terdapat pada bubur bayi yaitu 11,1%. Grafik penyajian dapat dilihat pada gambar 6. Rata-rata tingkat kesesuaian dari total aflatoxin adalah 101,6% dengan $vk=15,8$ ($n=4$). Jumlah toksin yang diberikan untuk *spike* pada pendeteksian total aflatoksin 17.5 ng/g.



Gambar 6. Persentase kontaminasi aflatoxin total berdasarkan jenis produk makanan bayi.

Dari hasil uji ELISA, terlihat bahwa kontaminasi total aflatoksin hanya terdapat pada produk bubur bayi. Kemungkinan kontaminasi aflatoksin dapat melalui produk serelia sebagai bahan dasar bubur bayi seperti beras, kacang-kacangan (kacang hijau), atau dari susunya sendiri yang dalam hal ini kemungkinan adalah aflatoxin M₁. Keberadaan aflatoxin pada pakan akan

dikeluarkan melalui susu (M_1) atau akan tetap berada pada daging dan telur kemudian memasuki rantai makanan manusia secara tidak langsung (Özay and Heperkan, 1989). Uji yang dilakukan adalah terhadap total aflatoxin, oleh karena itu tidak dapat mengukur jenis aflatoxin yang mencemari makanan bayi tersebut. Uji ini cuma dapat menunjukkan adanya kontaminasi aflatoxin pada makanan bayi tersebut.

Kadar maksimum dari total aflatoxin pada makanan untuk konsumsi manusia menurut FDA adalah 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (20 ppb) untuk aflatoxin B_1 , B_2 , G_1 , G_2 (FDA 2003) dan aflatoxin M_1 adalah 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, sedangkan menurut EU untuk bahan pangan berbahan dasar sereal konsumsi manusia adalah 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bobot badan. Kontaminasi total aflatoxin pada makanan bayi sendiri berada di atas standar EU yang telah ditetapkan, yaitu rata-ratanya adalah 13.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=4$), bervariasi 10.2-16.95 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Menurut FDA, angka tersebut masih berada di bawah standar yang ditetapkan. Selain dilihat dari aspek kesehatan, kontaminasi dari aflatoxin juga menimbulkan dampak pada ekonomi pertanian melalui penurunan produksi dan peningkatan biaya dan waktu yang dibutuhkan untuk mengawasi dan usaha untuk menghilangkan toksin (Dorner *et al.*, 1999).

Aflatoxin sendiri dapat dikatakan bersifat karsinogenik, terutama aflatoxin yang didapat dari kontaminasi alami (aflatoxin B_1 , B_2 , G_1 , G_2). IARC telah menetapkan aflatoxin dalam grup 1, yaitu agen (dalam hal ini aflatoxin) bersifat karsinogenik pada manusia. Secara terpisah aflatoxin M_1 digolongkan dalam grup 2 B, yaitu aflatoxin M_1 memungkinkan bersifat karsinogenik pada manusia (Castegnaro and McGregor, 1998).

Kontrol Kontaminasi Mikotoksin terhadap Bahan Pangan Serealia

Pada dasarnya, untuk mencegah kontaminasi mikotoksin pada bahan pangan serealia adalah dengan mencegah pertumbuhan kapang penghasil mikotoksin pada tanaman serealia tersebut. Pencegahan lain meliputi pengeringan berulang, penyimpanan yang sesuai untuk hasil pertanian tersebut atau dapat juga penggunaan bahan pengawet anti kapang. Apabila mikotoksin diduga telah mengkontaminasi hasil pertanian tersebut, terdapat beberapa metode yang dapat dilakukan untuk menghilangkan mikotoksin tersebut. Metode tersebut meliputi teknik separasi secara mekanik (penggilingan, pemilihan), ekstraksi kimia terhadap mikotoksin, atau dekontaminasi atau detoksifikasi dari mikotoksin dengan melakukan metode pembatasan secara fisik, kimiawi, atau biologi (Smith *et al.*, 1994).

Pengembangan Teknik ELISA untuk Mendeteksi Mikotoksin pada Makanan Bayi

Monoklonal dan poliklonal antibodi

Peranan penggunaan antibodi monoklonal atau poliklonal dalam reaksi ELISA adalah untuk menentukan spesifitas. Anonim (2002) menyatakan bahwa perbedaan poliklonal dengan monoklonal antibodi adalah poliklonal antibodi umumnya didapatkan dari darah binatang percobaan (kelinci, domba, kambing) yang mengalami reaksi imunisasi, sedangkan monoklonal antibodi didapatkan dari suatu sel penghasil antibodi (sampelnya limfa) yang diangkat dari hewan yang terimunisasi. Monoklonal antibodi akan bersifat lebih spesifik, karena mengeluarkan berjuta antibodi yang spesifik dan mempunyai tingkat ikatan yang

sama. Poliklonal antibodi sendiri akan berisi jutaan antibodi dengan spesifik dan tingkat ikatan yang berbeda, akibatnya akan bersifat lebih sensitif, dibandingkan dengan antibodi monoklonal.

Enzim konjugat

Reaksi enzim-label akan dideteksi dengan menggunakan substrat kromogenik. Intesitas dari enzim akan ditentukan melalui perubahan warna pada spektrofotometer. Sistem konjugat yang digunakan dalam penelitian adalah menggunakan toksin yang diberi label enzim HRP. Penggunaan enzim HRP ini berdasarkan penelitian sebelumnya dan dinilai bahwa enzim ini berfungsi dengan baik. Substrat yang digunakan adalah TMB karena TMB adalah substrat kromogenik yang paling sensitif untuk mendeteksi HRP (Harlan and Lane, 1998).

Uji ELISA kompetitif langsung

Seperti yang dijelaskan di atas, pada uji mikotoksin ini semuanya menggunakan metode kompetitif. Dasar dari metode ini adalah persaingan antara toksin (dari sampel) dengan toksin yang dilabel oleh enzim (sistem konjugat) untuk berikatan dengan antibodi. Semakin banyak toksin berlabel yang dapat berikatan dengan antibodi, semakin banyak akan terjadi reaksi antara enzim HRP dengan larutan substrat (TMB dan H_2O_2) dan warna biru akan terbentuk setelah penambahan substrat tersebut. Semakin banyak sampel mengandung toksin, akan lebih banyak toksin menempel pada antibodi dan reaksi antara enzim HRP dengan substrat lebih sedikit sehingga warna biru yang dihasilkan tidak terlalu kuat. Semakin banyak toksin (dari sampel), warna biru semakin pudar, sedangkan semakin sedikit toksin, warna biru akan semakin gelap.

Pada pengujian DON dan total aflatoxin, pengujian yang dilakukan menggunakan 2 antibodi. Pada pengujian DON, *plate* ELISA pada awalnya dilapisi dengan antibodi IgG, kemudian baru dilapisi oleh monoklonal antibodi spesifik terhadap DON. Antigen (toksin) akan berikatan dengan monoklonal antibodi tersebut. Uji aflatoxin juga menggunakan 2 antibodi, antibodi kedua, yaitu anti-aflatoxin antibodi (dalam hal ini bersifat monoklonal), akan berikatan dengan antibodi pertama, yaitu antibodi pengikat (*capture antibody*). Dalam waktu bersamaan toksin (sampel/standar) dan aflatoxin-enzim konjugat dimasukkan untuk kemudian berkompetisi dalam melakukan ikatan dengan antibodi kedua. Untuk pengujian ZON dan OCA yang menggunakan satu antibodi poliklonal, antigen akan langsung berikatan dengan antibodi yang dilapiskan pada *plate* ELISA.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan pengujian yang dilakukan pada 55 sampel makanan bayi asal Indonesia dengan menggunakan teknik ELISA adalah sebagai berikut.

- (1) Kontaminasi mikotoksin pada makanan bayi tertinggi adalah oleh ochratoxin A, yaitu sebesar 56.36%, selanjutnya adalah deoxynivalenol, sebesar 20%, aflatoxin sebesar 7.27% dan terakhir zearalenone sebanyak 5.45%.
- (2) Berdasarkan jenis makanan bayi, kontaminasi tertinggi terdapat pada bubur bayi dan biskuit, yaitu 75% mengandung mikotoksin. Pada produk bubur

- bayi lanjutan 50% dan tidak ditemukan sampel yang positif pada bubuk tim instan.
- (3) Kontaminasi mikotoksin (DON, ZON, dan OCA) pada makanan bayi rata-rata masih di bawah standar internasional atau standar dari beberapa negara, kecuali untuk total aflatoxin yang berada di atas standar EU dan standar beberapa negara.
 - (4) Metode ELISA kompetisi langsung yang digunakan untuk deteksi mikotoksin pada makanan bayi sudah cukup baik, hal ini terlihat dengan tingkat kesesuaian rata-rata di atas 88%.
 - (5) Penggunaan monoklonal antibodi lebih diminati, terutama karena spesifik yang tinggi dari antibodi ini, jika dibandingkan dengan poliklonal antibodi.

Saran

Diperlukan adanya suatu standar terhadap kontaminasi mikotoksin pada makanan bayi di Indonesia karena sampai saat ini belum ada standar yang pasti di Indonesia dan perlu adanya peningkatan pengawasan dalam memproduksi makanan bayi. Diperlukan pula adanya pengembangan lebih lanjut uji ELISA menggunakan monoklonal antibodi untuk meningkatkan spesifitas terhadap jenis toksin.

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 2002. Analysis of aflatoxin B1 in peanuts. Di dalam Analysis of Aflatoxin B1 in Peanuts. ELISA Workshop; Bogor 12-13 Februari 2002. Bogor, Indonesia. University of Sydney. Australian Centre for International Agricultural Research and Seameo Biotrop.
- [Anonim]. 2003^a. Opinion of the Scientific Committee on Food on Zearalenone (expressed on 22 June 2000). http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out65_en.pdf. [1 November 2003]
- [Anonim]. 2003^b. Opinion of the Scientific Committee on Food on Ochratoxin A (expressed on 17 September 1998). http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out14_en.html. [8 Oktober 2003].
- [Codex] Codex Alimentarius Commission. Joint FAO/WHO Food Standards Programs. Codex Committee on Food Additives and Contaminants. 2003. Discussion Paper on Deoxynivalenol. <http://www.codexalimentarius.nl>. [25 September 2003]
- Castegnaro, M. and McGregor, D. 1998. Carcinogenic risk assessment of mycotoxins. *Revue Méd Véd* 149 (6): 671-678.
- Dorner, J.W., Cole, R.J., and Wicklow, D.T. 1999. Aflatoxin reduction in corn through field application of competitive fungi. *Journal of Food Protection* 62 (6). 650-656
- Eriksen, G S, and Alexander, J editor. 1998. Fusarium toxins in cereals – a risk assesement. Tema Nord. © Nordic Council of Ministers, Copenhagen.

- [FDA] Food and Drug Administration. Mycotoxins in Domestic Foods. Chapter 07-Molecular Biology and Natural Toxins. <http://vm.cfsan.fda.gov/~comm/cp07001.html>. [1 Oktober 2003].
- Galtier, P. 1998. Biological fate of mycotoxins in animals. *Revue Méd Vét* 149 (6): 549-554.
- Harlan, E. and Lane, D. 1998. *Antibodies a Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. USA.
- Mattjik, A.A. dan Sumertajaya, I.M. 2002. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab Jilid 1*. Percetakan Jurusan Statiska FMIPA IPB. IPB PRESS.
- Nitsch, S., Fuchs, E., Schatzmayr, G., and Binder, E. 2003. Effects of dietary Ochratoxin A on broiler chicken. Di dalam :Gesellschaft für Mykotoxinforschung e.V. 25 Mykotoxin-Workshop; Kongresshalle, Berliner Platz 2, D-35390 Giessen, 19-21 Mai 2003. Professur für Milchwissenschaften Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde Fachbereich Veterinärmedizin Justus-Liebig-Universität Giessen & Gesellschaft für Mykotoxinforschung e.V.
- Özay, G. and Heperken, D. 1989. Mould and mycotoxin contamination of stored corn in Turkey. *Mycotoxin Reserach* 5: 81-87.
- Rosner, H. 1998. Mycotoxin regulations: an update. *Revue Méd Vét* 149 (6): 679-680.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 2000. *Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Batas Maksimum Residu dalam Bahan Makanan Asal Hewan*. Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional.
- Smith, J.E., Lewis, C.W., Anderson, J.G., and Solomons, G.L. 1994. *Mycotoxins in Human Nutrition and Health*. Departement of Bioscience&Biotechnology University of Strathclyde Glasgow G1 1XW. Directorate-General XII Science, Research and Development
- Withanage, G.S.K., Murata, H., Koyama, T., and Ishiwata, I. 2001. Agonistic and antagonistic effects of zearalenone, an estrogenic mycotoxin, on SKK, HHUA, and HepG2 human cancer cell lines. *Vet Human Toxicology* 43 (1): 6-10.