

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mikotoksin teridentifikasi setelah menyebabkan berbagai masalah kesehatan pada berbagai macam organ dan sistem tubuh hewan ternak dan manusia. Mikotoksin terdapat alami pada lingkungan yang ditumbuhi jamur dan merupakan kontaminan yang tidak diinginkan pada bahan makanan dan pakan ternak. Aflatoksin merupakan salah satu kelompok mikotoksin yang mengakibatkan keracunan akut dan kronis yang bersifat karsinogenik, teratogenik dan mutagenik serta menyebabkan karsinoma hepatoseluler (Galvano *et al*, 1996).

Ada berbagai jenis Aflatoksin, Aflatoksin B1 dan G1 adalah yang paling banyak dijumpai. Aflatoksin B1 (AFB1) merupakan Aflatoksin yang paling berpotensi menyebabkan karsinoma hepatoseluler oleh karena itu paparan kronis jangka panjang Aflatoksin dalam konsentrasi rendah menjadi perhatian dalam kesehatan manusia (Prandini *et al*, 2009). AFB1 dalam pakan ternak dapat berpindah ke air susu sebagai metabolit hidroksilasi yaitu Aflatoksin M1 (AFM1). AFM1 memiliki toksisitas yang sama dengan AFB1, dapat meracuni sel hati manusia dalam pengamatan *invitro* dan menyebabkan keracunan akut pada berapa makhluk hidup. Pada hewan coba (anak itik dan tikus) AFM1 menunjukkan toksisitas akut yang sama dengan AFB1 (Ellis *et al*, 1991; Prandini *et al*, 2009). Berdasarkan karakteristik toksikologis dan akibat karsinogenik yang ditimbulkan AFM1, *International Agency for Research on Cancer (IARC)* merubah kategori karsinogenik AFM1 dari golongan 2B menjadi golongan 1, yaitu golongan zat karsinogenik yang telah terbukti (IARC, 2012).

Susu banyak dikonsumsi oleh bayi dan anak-anak sebagai sumber nutrisi dalam makanan sehari-hari. Pada lima tahun terakhir permintaan susu cair di Indonesia meningkat 15-20 % per tahun. Kesadaran minum susu di Indonesia masih difokuskan pada anak-anak, dan rata rata berhenti selepas balita atau masuk Sekolah Dasar

(Pertwi, 2014). Permintaan susu *UHT* tumbuh lebih cepat dibandingkan susu bubuk sebesar 12% dalam setiap tahunnya. Pertumbuhan ini disebabkan adanya banyaknya retail, tuntutan gaya hidup dan juga harga yang makin terjangkau (Keimas, 2017). Preferensi konsumen saat ini cenderung mengarah pada jenis susu cair siap minum yang dirasa lebih segar dan alami (Nugroho, 2010).

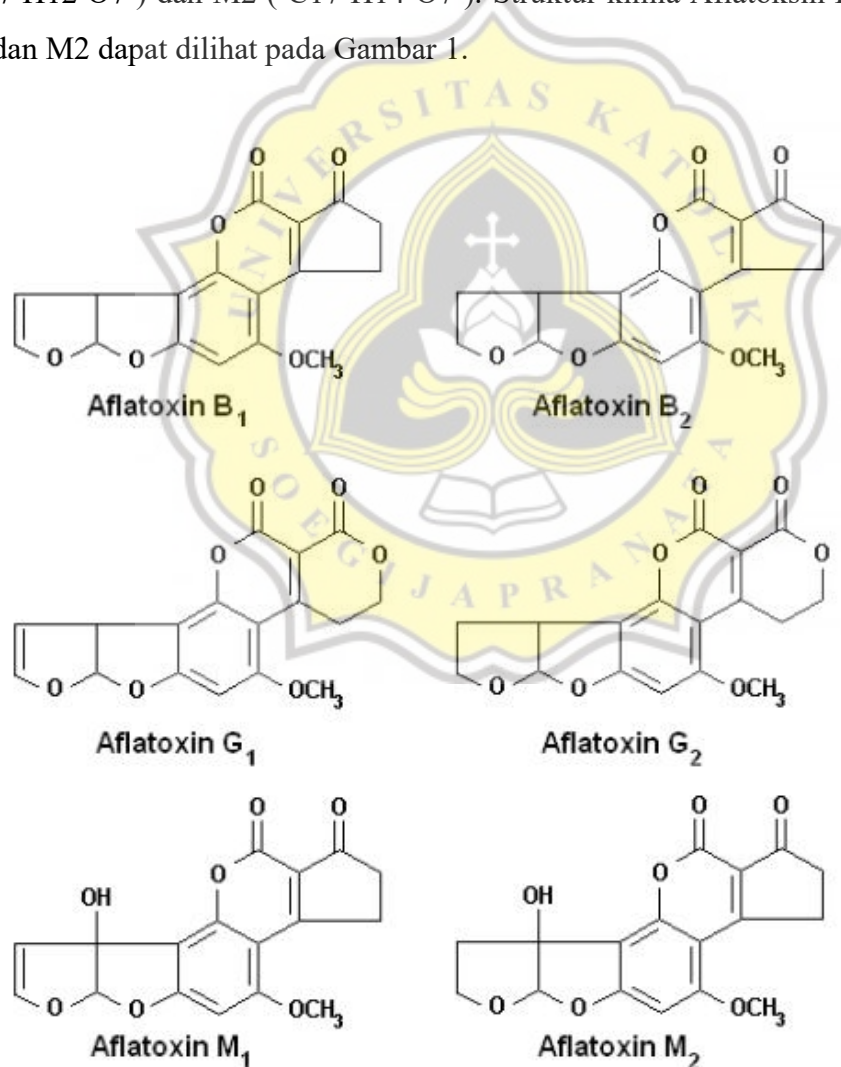
Permasalahan yang timbul adalah AFM1 stabil terhadap pemanasan sehingga konsentrasi AFM1 dalam susu tidak berkurang secara nyata dengan proses pemanasan yang dilakukan pada Industri Pengolahan Susu, yaitu pemanasan pasteurisasi maupun pemanasan dengan *Ultra High Temperature (UHT)* dalam proses persiapan maupun penyimpanan pada berbagai produk olahan susu (Prandini *et al*, 2009). Keberadaan dan konsentrasi AFM1 pada susu dan produk olahan susu terutama susu *UHT* menjadi perhatian, terlebih lagi produk susu banyak dikonsumsi oleh anak-anak.

1.2. Tinjauan Pustaka

1.2.1. Aflatoksin : Pengertian, Sifat Kimia dan Toksisitas

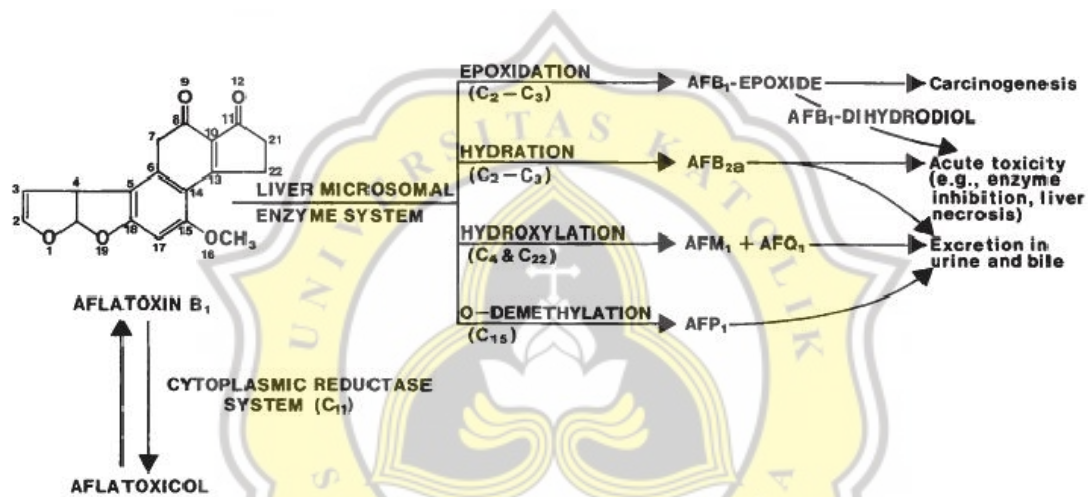
Mikotoksin keberadaannya sangat luas dan dapat mengkontaminasi bahan pangan dan pertanian. Mikotoksin merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur pada kondisi nutrisi, suhu lingkungan, *water activity* dan oksigen yang mendukung pertumbuhan jamur. Aflatoksin merupakan golongan mikotoksin yang dihasilkan oleh jamur jenis *Aspergillus sp.* yaitu : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* dan *Aspergillus nomius*. *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* merupakan jamur yang dapat berkoloni di pertanian tropis maupun subtropis serta dapat berkoloni pada hasil paska panen yang tidak dikeringkan. Temperatur pertumbuhan jamur 12–48 °C dengan kondisi optimal pada 36–38 °C. Jamur dapat tumbuh pada sereal seperti kacang, jagung dan biji kapas. Spora jamur dapat bertahan pada tanah dan sisa-sisa hasil pertanian, jika kondisi memungkinkan untuk pertumbuhan maka spora akan berkembangbiak (Prandini *et al*, 2009).

Aflatoksin merupakan turunan *difuranocoumarin* dengan 18 tipe yang telah teridentifikasi. Aflatoksin yang paling banyak dijumpai adalah Aflatoksin tipe B1, B2, G1, G2, M1 dan M2. Identifikasi tipe B (*blue*) dan G (*green*) berdasarkan pancaran warna yang dihasilkan pada pengamatan dengan gelombang sinar ultraviolet dan indeks angka 1 dan 2 berdasarkan pola pemisahan pada pengamatan dengan Kromatografi Lapis Tipis (Ellis *et al*, 1991). Aflatoksin B1 dan B2 diproduksi oleh kapang *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus paraciticus* sedangkan Aflatoksin G1 dan G2 hanya diproduksi oleh *Aspergillus paraciticus*. Rumus kimia dari Aflatoksin B1 (C17 H12 O6), B2 (C17 H14 O6), G1 (C17 H12 O7), G2 (C17 H14 O7), M1 (C17 H12 O7) dan M2 (C17 H14 O7). Struktur kimia Aflatoksin B1, B2, G1, G2, M1 dan M2 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Aflatoksin B1, B2, G1, G2, M1 & M2 (Ellis *et al*, 1991)

AFB1 merupakan Aflatoksin yang paling berpotensi menyebabkan karsinoma hepatoseluler, maka paparan kronis jangka panjang dalam konsentrasi rendah menjadi perhatian (Prandini *et al*, 2009). Akibat biologis AFB1 dapat dikategorikan sebagai karsinogenik, mutagenik, teratogenik, hepatotoksik dan aflatoksikosis (Ellis *et al*, 1991). Secara umum, mikotoksin mempengaruhi sintesis protein, DNA dan RNA yang menyebabkan perubahan fungsi fisiologis termasuk pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi. Secara klinis, toksisitas AFB1 digolongkan menurut target organ, yaitu: hepatotoksin, nephrotoksin, neurotoksin dan immunotoksin. Secara biologis sel, toksisitas AFB1 dikelompokkan sebagai teratogenik, mutagenik, karsinogenik, dan alergenik (Omar, 2013).



Gambar 2. Metabolisme Aflatoksin B1 (Omar, 2013)

Metabolisme Aflatoksin dalam tubuh diilustrasikan pada Gambar 2. Pada saat Aflatoksin masuk ke dalam tubuh akan diserap dan konsentrasi paling tinggi terdapat pada organ hati. Pada organ hati terjadi biotransformasi yaitu : reduktif, oksidatif dan hidrolitik oleh enzim *cytochrome* P-450. Metabolisme Aflatoksin B1 melalui hidroksilasi, hidrasi, demetilasi dan epoksidasi. Epoksidasi menghasilkan metabolit AFB1-8,9-*epoxide* yang sangat reaktif, dimana dapat berikatan dengan DNA, RNA, atau protein. Ikatan kovalen dengan DNA adalah tahapan dalam pembentukan sel karsinogenik. Reaksi Hidrasi pada ikatan rangkap C2-C3 menghasilkan AFB2a. Hidroksilasi AFB1 pada rantai C4 atau C22 menghasilkan AFM1 dan AFG1. Demetilasi AFB1 menghasilkan AFP1 (Omar, 2013).

Paparan rutin AFB1 dalam dosis rendah merupakan salah satu faktor penyebab kanker hati, kwasiokor dan gangguan pertumbuhan anak. Aflatosikosis akut pada mamalia antara lain: kelesuan, lemah, perumbuhan bulu kasar, pembengkakan jaringan lemak hati serta berkurangnya asupan dan efisiensi pakan yang menimbulkan penurunan produktivitas ternak (Bath *et al*, 2010).

Di Indonesia, karsinoma hepatoma merupakan salah satu golongan penyakit kanker yang banyak diderita dengan tingkat kematian yang tinggi. Meskipun tingkat kematiannya cukup tinggi, belum ada yang memastikan penyebabnya, dari 483 kasus dari tahun 2001 sampai dengan 2005 yang dievaluasi, terdapat 367 kasus (76%) berkorelasi kuat dengan penyakit hati seperti *liver cirrhosis*, hepatitis B dan hepatitis C dan 116 kasus (24%) diduga berhubungan dengan faktor karsinogenik termasuk paparan Aflatoksin (Rasyid, 2006). Oleh karena itu keberadaan Aflatoksin menjadi penting diketahui dan dievaluasi.

1.2.2. Deteksi Aflatoksin pada Bahan Pangan

Metode untuk mendeteksi Aflatoksin sangat beragam sesuai dengan jenis komoditas yang terkontaminasi. Pada dasarnya metode deteksi Aflatoksin terbagi menjadi 2 yaitu : Fisikokimia dan Biologi. Pada tahap awal yang penting dilakukan adalah: persiapan sampel, ekstraksi, pemurnian dan pemisahan. Ekstraksi dilakukan untuk memisahkan Aflatoksin dan ekstraksi yang dilakukan harus efisien, kuantitatif serta memastikan tidak terjadi reaksi yang menimbulkan perubahan pada aflatoksin yang dipisahkan. Metode ekstraksi yang umum dilakukan adalah pemisahan lemak. Aflatoksin merupakan senyawa kristal yang larut dalam pelarut polar, maka umumnya untuk mengekstrak Aflatoksin menggunakan pelarut organik seperti: Aceton, Kloroform atau Metanol (Ellis *et al*, 1991).

Metode deteksi Fisikokimia menggunakan proses kromatografi, yaitu: Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), Kromatografi Gas (KG) dan metode tes cepat menggunakan *Bright-Green Yellow (BGY) Fluorescence Test dan Minicolumn Detection*. Metode tes cepat merupakan metoda kualitatif untuk mendeteksi Aflatoksin total. Perbandingan antar metode Fisikokimia dalam deteksi Aflatoksin pada bahan pangan dapat dilihat pada Tabel 1. Metode Biologi untuk mendeteksi Aflatoksin menggunakan *bioassays* dan *immunoassays*. *Bioassays* terdiri dari: kultur sel dan jaringan menggunakan hewan uji dan mikroorganisme. *Immunoassays* menggunakan respon imun dimana organisme membentuk antibodi yang merespon antigen spesifik. Metode *Immunoassays* yang telah dikembangkan antara lain : *Radioimmunoassay (RIA)* dan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*.

Tabel 1. Perbandingan antar Metoda Fisikokimia dalam deteksi Aflatoksin pada bahan pangan

Metode	Tingkat deteksi (ng/g)	Kelebihan	Kekurangan	Komoditas
KLT	> 10	Serba guna & cepat	Kurang sensitif	Kacang, coklat, jagung, kelapa, kopra
KCKT	> 1	Akurasi tinggi & sensitif	Mahal	Produk susu, biji kapas, kacang
KG	Tidak teridentifikasi	cepat	Mahal, kurang sensitif	
<i>Minicoloum</i>	> 5	Cepat , mudah, dapat dipakai untuk analisa rutin	Tidak akurat	Campuran pakan ternak, biji kapas, kacang, jagung
<i>BGYF</i>	Tidak teridentifikasi	cepat	Tidak akurat	Jagung, <i>barley</i> , sorgum

(Ellis *et al*, 1991)

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah suatu teknik mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam suatu sampel. Prinsip dasar ELISA adalah:

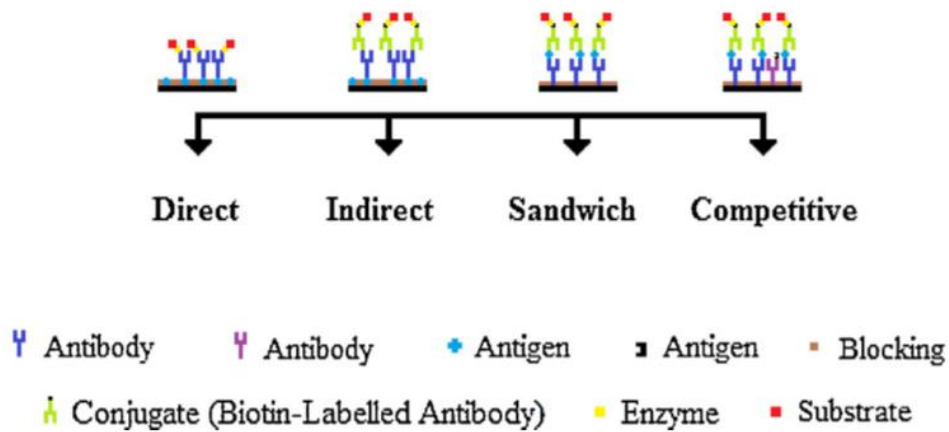
Antigen atau antibodi yang hendak diuji ditempelkan pada suatu permukaan yang berupa *microtiter*. Penempelan tersebut dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu penempelan secara non spesifik di permukaan mikrotiter dan penempelan secara spesifik dengan menggunakan antibody atau antigen lain yang bersifat spesifik dengan antigen atau antibodi yang diuji. Antibodi atau Antigen disesuaikan dengan sampel yang akan diuji. Untuk sampel berupa antigen digunakan antibodi spesifik, sedangkan untuk sampel berupa antibodi digunakan antigen spesifik. Antibodi atau antigen spesifik yang telah ditautkan dengan suatu enzim, dicampurkan ke atas permukaan sampai terjadi interaksi antara antibodi dengan antigen yang bersesuaian. Kemudian ke atas permukaan tersebut dicampurkan suatu substrat yang dapat bereaksi dengan enzim. Pada saat substrat tersebut dicampurkan ke permukaan, enzim yang bertaut dengan antibodi atau antigen spesifik yang berinteraksi dengan antibodi atau antigen sampel akan bereaksi dengan substrat dan menimbulkan suatu sinyal yang dapat dideteksi. Enzim yang tertaut dengan antibodi atau antigen spesifik akan bereaksi dengan substrat dan menimbulkan sinyal berupa pendaran (Aydin, 2015).

Enzim yang digunakan pada metode ELISA adalah *horseradish peroxidase*. Prinsip ELISA Heterogen adalah melapisi antibodi spesifik pada 2 fase padat menggunakan *microplate* atau *polystyrene tube*. Antibodi dilapis menggunakan *glutaraldehyde* atau *bicarbonate* dikeringkan dan dilakukan pencucian dengan larutan *buffer*. Larutan sampel atau larutan standar diinkubasi dengan enzim konjugasi. Lapisan yang terbentuk dilakukan pembilasan untuk menghilangkan sisa enzim, kemudian diikat dengan fase padat yaitu inkubasi larutan substrat yang mengandung *hydrogen peroxide* dan *chromogen* yang akan menghasilkan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer (Ellis *et al*, 1991).

Menurut Aydin (2015), ada 4 tipe ELISA, yaitu : *Direct ELISA*, *Indirect ELISA*, *Sandwich ELISA* dan *Competitive ELISA*, yang digambarkan pada Gambar 3. *Direct ELISA* merupakan metode yang paling awal dan paling sederhana yaitu dengan teknik menyaring antigen. Permukaan sumuran diisi sampel yang mengandung antigen yang diinginkan sehingga menempel pada dinding sumuran kemudian dibilas untuk membuang antigen yang tidak menempel. Antibodi yang telah ditautkan dengan

enzim dimasukkan sehingga dapat berinteraksi dengan antigen yang diinginkan kemudian dibilas untuk membuang antibodi tertaut enzim yang tidak berinteraksi dengan antigen kemudian ditambahkan substrat yang akan berinteraksi dengan enzim dan dapat dideteksi. Metode *Indirect* ELISA digunakan untuk mendeteksi antibodi, menggunakan antigen spesifik serta antibodi spesifik tertaut enzim untuk mendeteksi keberadaan antibodi. Antigen yang sudah dikenal dan diketahui konsentrasinya ditempelkan pada dinding sumuran, kemudian dilakukan pembatasan penghambatan penyerapan non-spesifik dari protein lain ke dinding dan penambahan antigen. Antibodi pendeteksi yang spesifik untuk antigen yang diuji dimasukkan dan akan mengikat antigen terimobilisasi kemudian dibilas dan ditambahkan substrat yang akan berinteraksi dengan enzim dan dapat dideteksi.

Metode *Sandwich* ELISA mirip dengan *direct* ELISA, hanya saja larutan antigen yang diinginkan tidak perlu dipurifikasi. Antigen yang diinginkan harus dapat berinteraksi dengan antibodi primer spesifik dan antibodi sekunder spesifik tertaut enzim, maka *sandwich* ELISA cenderung dikhususkan pada antigen memiliki minimal 2 sisi antigenik (sisi interaksi dengan antibodi) atau antigen yang berikatan multi seperti polisakarida atau protein. Pada ELISA sandwich, antibody primer seringkali disebut sebagai antibodi penangkap, sedangkan antibodi sekunder seringkali disebut sebagai antibodi penangkap, sedangkan antibodi sekunder seringkali disebut sebagai antibodi deteksi. *Competitive* ELISA merupakan pengembangan teknik ELISA dengan menambahkan suatu kompetitor dan dapat mendeteksi keberadaan antigen atau antibodi. Pada dinding sumuran dilapisi antigen-spesifik antibodi atau antibodi-spesifik antigen. Sample yang akan diukur dan enzim yang mengandung antigen atau antibodi dimasukkan bersamaan. Antibodi atau antigen akan berkompetisi membentuk antibodi atau antigen kemudian dilakukan pencucian dan ditambahkan enzim untuk pewarnaan. Perbedaan pada Metode ELISA dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 3. Tipe Metode ELISA (Aydin, 2015)

Tabel 2. Perbandingan tipe Metode ELISA

Tipe	Pemisahan	Kekurangan	Kelebihan
<i>Direct</i>	Antibodi	<i>False-positive</i>	Sensitivitas rendah
<i>Indirect</i>	Antigen / antibodi	<i>Immobilization non specific</i>	Sensitivitas tinggi
<i>Sandwich</i>	Antigen	-	Sensitivitas sangat tinggi
<i>Competitive</i>	Antibodi	-	Sensitivitas tinggi

Aydin (2015)

Menurut Xie (2015), Metode ELISA memiliki banyak keuntungan yaitu: batas deteksi yang rendah, volume sampel analisa sedikit, hasil analisa sampel banyak, cepat, sensitif, mudah dilakukan. Enzim *Horseradish peroxidase* (HRP) merupakan enzim yang sering digunakan dalam metode ELISA. Absorbansi pada metode ELISA menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 450 nm. Metode ELISA dapat dilakukan dengan cepat, namun kadang-kadang dapat menghasilkan hasil yang semu dan kurang akurat jika dibandingkan dengan metode KLT dan KCKT. Menurut Scott (1989), Aflatoxin M1 pada susu rekonstruksi dapat dianalisa dengan ELISA sampai dengan konsentrasi 5-6 ng/kg.

Menurut Aini (2015), semua metode analisis aflatoxin untuk pakan dan bahan makanan dapat digunakan sesuai dengan kemampuan laboratorium. Metode analisis yang umumnya digunakan adalah KLT, KCKT, dan ELISA. Metode KCKT memiliki kemampuan yang paling baik untuk menganalisis aflatoxin dalam makanan. Menurut Kos *et al* (2016), Dalam analisa AFM1, Metode ELISA memberikan indikasi hasil sama dengan metode HPLC namun nilai konsentrasinya sedikit lebih tinggi. Pemilihan metode analisis dapat disesuaikan dengan ketelitian yang dibutuhkan dan kemampuan laboratorium yang dimiliki. Secara singkat, perbandingan metode analisis aflatoxin dalam makanan dapat dilihat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan Metode analisis Aflatoksin dalam makanan

Faktor Pembanding	KLT	KCKT	ELISA
Sensitivitas	Hingga satuan ppb	Hingga satuan ppb	Hingga satuan ppb
Spesifisitas	Mampu membedakan jenis-jenis Aflatoksin	Mampu membedakan jenis-jenis Aflatoksin	Aflatoksin total
Pemanfaatan	Kualitatif, semikuantitatif	Kualitatif, kuantitatif	Kualitatif, kuantitatif
Waktu analisis	Lebih lama	Cepat	Cepat
Kemampuan analisis banyak sample sekaligus	Terbatas	Ya	Ya
Biaya analisis	Lebih murah	Lebih murah	Lebih murah

Aini (2012)

1.2.3. Susu

Menurut Aritonang (2010), susu adalah cairan berwarna putih yang disekresi oleh kelenjar *mammae* (ambing) pada mamalia betina, untuk bahan makanan dan sumber

gizi bagi anaknya. Susu yang dikonsumsi manusia sebagian besar berasal dari sapi. Susu memiliki kandungan nutrisi yang tinggi, komposisi gizi susu sapi dapat dilihat ada Tabel 4. Susu segar mudah rusak karena aktivitas bakteri pembusuk didalamnya. Susu juga kaya nutrisi dan banyak mengandung air yang merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme. Oleh karena itu, susu segar hanya bertahan empat jam saja setelah pemerahan. Secara kimiawi susu segar yang baru diperah mempunyai pH sedikit asam yaitu sekitar 6,5-6,6. Penanganan susu segar yang lazim dilakukan untuk memperpanjang masa simpannya adalah dengan pendinginan.

Tabel 4. Kandungan Gizi Susu Sapi per 100 gram

Kandungan Zat Gizi	Komposisi
Energi (kcal)	61
Protein (g)	3,2
Lemak (g)	3,5
Karbohidrat (g)	4,3
Kalsium (mg)	143
Fosfor (mg)	60
Besi (mg)	1,7
Vitamin A (mcg)	39
Vitamin B1 (mg)	0,03
Air (g)	88,3

Depkes RI, 2020

Salah satu cara yang sederhana untuk mengolah susu segar yaitu dengan pemanasan yang bertujuan mematikan atau menonaktifkan mikroorganisme yang ada didalamnya sehingga susu tidak mudah rusak dan memperpanjang masa simpannya. Proses pengolahan susu yang paling disarankan adalah dengan *Ultra High Temperature (UHT)*, karena dapat mempertahankan nilai gizi lebih baik daripada pengolahan lainnya. *UHT* disebut juga sterilisasi yaitu susu yang diolah menggunakan pemanasan dengan suhu tinggi (135-145°C) dalam waktu singkat (2-5detik). Pemanasan suhu tinggi bertujuan untuk membunuh seluruh mikroorganisme (baik pembusuk maupun

patogen). Waktu pemanasan yang singkat dimaksudkan untuk mencegah nilai gizi susu serta untuk mendapatkan warna, aroma, dan rasa yang relatif tidak berubah, seperti susu segarnya. Selain itu kelebihan susu *UHT* memiliki umur simpan yang panjang, yaitu 6-10 bulan tanpa bahan pengawet dengan suhu penyimpanan suhu ruang (Burton, 1994). Susu *UHT* adalah produk susu yang diperoleh dari susu segar, dan atau susu rekonstitusi, dan atau susu rekombinasi dengan cara memanaskan pada kondisi *ultra high temperature*, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diijinkan, serta dikemas secara aseptik untuk mencapai sterilitas komersial (SNI, 2014).

Menurut SNI (2014), Bahan Baku utama produk susu *UHT* adalah susu segar dan atau susu rekonstitusi, atau susu rekombinasi serta bahan tambahan makanan yang diijinkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku. Susu segar merupakan cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih, yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun kecuali pendinginan. Susu rekonstitusi merupakan susu cair yang disiapkan dengan penambahan air pada susu bubuk berlemak (*full cream*) atau susu bubuk skim atau susu bubuk rendah lemak sedangkan susu rekombinasi merupakan susu cair yang dihasilkan dari campuran komponen susu (susu skim, krim) dan air atau susu atau keduanya. Pengklasifikasian susu *UHT* didasarkan pada kadar lemak yaitu : Susu *UHT* Berlemak (*Full Cream*) , Susu *UHT* Rendah Lemak (*Low Fat Milk*), Susu *UHT* Bebas Lemak (*Free Fat Milk*).

Bahan tambahan makanan yang umumnya ditambahkan pada susu *UHT* adalah gula dan perisa makanan. Gula dan Perisa makanan ditambahkan dengan tujuan meningkatkan cita rasa susu *UHT* dan sebagai alternatif konsumen yang tidak menyukai rasa susu *UHT* murni. Meskipun susu berperisa dikritik sebagai sumber asupan gula, namun dikonsumsi oleh anak-anak untuk memenuhi kebutuhan Kalsium. (Johnson *et al*, 2002 ; Murphy *et al*, 2008). Data dari *Third School Nutrition Dietary Assessment Study* memperlihatkan sebagian besar bahwa anak-anak sekolah dasar lebih memilih susu berperisa (71%) (Codon *et al*, 2009).

Konsumsi susu cair di Indonesia adalah 13,47 liter per kapita, jumlah ini paling rendah di Asia dibandingkan negara Singapura, Malaysia dan India yang mencapai lebih dari 40 liter per kapita. Konsumsi susu sangat penting dalam menunjang pertumbuhan. Susu banyak dikonsumsi oleh bayi dan anak-anak sebagai sumber nutrisi dalam makanan sehari-hari. Pada lima tahun terakhir permintaan susu cair di Indonesia meningkat 15-20 % per tahun. Kesadaran minum susu di Indonesia masih difokuskan pada anak-anak, dan rata-rata berhenti selepas balita atau Sekolah Dasar (Pertwi, 2014). Permintaan susu *UHT* tumbuh lebih cepat dibandingkan susu bubuk sebesar 12% dalam setiap tahunnya. Pertumbuhan ini disebabkan adanya banyaknya retail, tuntutan gaya hidup dan juga harga yang makin terjangkau (Keimas, 2017). Preferensi konsumen saat ini cenderung mengarah pada jenis susu cair siap minum yang dirasa lebih segar dan alami (Nugroho, 2010).

1.2.4. Aflatoksin pada Susu

Susu merupakan salah satu sumber masuknya Aflatoksin ke dalam rantai pangan manusia jika pakan hewan ternak terkontaminasi Aflatoksin. Aflatoksin pada susu adalah AFM1 yang merupakan metabolit hidroksilasi dari AFB1 (Gambar 2). AFM1 memiliki toksisitas yang hampir sama dengan AFB1 walaupun toksisitasnya lebih rendah sedikit dari AFB1 (Ellis *et al*, 1991; Prandini *et al*, 2009) dan *International Agency for Research on Cancer (IARC)* menggolongkan pada golongan 1 yaitu terbukti menyebabkan karsinogenik (IARC, 2012).

Goto *et al* (1999), meneliti kandungan AFB1 pada 26 sampel bahan pangan di Jawa Tengah, Jawa Timur dan Bali didapati terkontaminasi AFB1 (kacang 63% dan jagung 80%). Konsentrasi AFM1 pada susu dan produk olahan susu tergantung pada jumlah paparan AFB1 yang diasup oleh hewan ternak. Selain itu variasi kontaminasi bergantung pada letak geografis, musim, kondisi lingkungan, ketersediaan pakan hijauan, ketersediaan pakan konsentrat dan kondisi penyimpanan pakan (Oliveira *et al*, 2013).

Menurut Ellis *et al* (1991), AFM1 dapat dideteksi pada susu sapi yang dihasilkan dalam waktu 48 jam setelah ternak mengonsumsi 0,5 mg/kg pakan yang terkontaminasi AFB1 (44%), AFG1 (44%), dan AFB2 (2%) dan Aflatoksin sudah tidak terdeteksi dalam susu yang dihasilkan waktu 4-6 hari kemudian. Untuk mendapatkan susu yang bebas terhadap residu AFM1 membutuhkan waktu 2-3 hari setelah pakan diganti dengan pakan yang bebas dari AFB1 (Widiastuti, 2014).

Permasalahan yang timbul adalah AFM1 stabil terhadap pemanasan sehingga konsentrasi AFM1 dalam susu tidak berkurang secara nyata dengan proses pemanasan yang dilakukan pada Industri Pengolahan Susu, yaitu pemanasan pasteurisasi maupun pemanasan dengan *Ultra High Temperature (UHT)* dalam proses persiapan maupun penyimpanan pada berbagai produk olahan susu (Prandini *et al*, 2009). Beberapa penelitian mengenai penguraian Aflatoksin dengan pemanasan menunjukkan bahwa AFB1 hampir semuanya terurai pada suhu pemanasan di atas 160°C (Raters&Matissek, 2008) dan terurai semua pada suhu pemanasan 250°C (Ellis *et al*, 1991). Aflatoksin terurai pada suhu 237-306°C dan AFB1 padat lebih stabil dan baru terurai pada suhu 267°C. Proses sterilisasi susu dengan suhu 120 °C selama 15 menit hanya mengurangi 20% kadar AFM1 (Rustom, 1997).

Proses pengolahan pangan lainnya seperti fermentasi (kefir dan yogurt) dilaporkan dapat mengurangi sedikit konsentrasi AFM1. AFM1 terlarut pada fase air atau partikel kasein susu, didapati pada beberapa penelitian krim susu dan mentega mengandung sedikit AFM1 (Prandini *et al*, 2009). Proses evaporasi dan pengeringan susu menjadi bubuk padat tidak mengurangi kandungan AFM1 (Al-Sawaf *et al.*, 2012). Pada produk keju dilaporkan konsentrasi AFM1 meningkat 3 kali lebih tinggi pada produk keju lunak dan 5 kali lebih tinggi pada produk keju keras dibandingkan pada susu cair (Sarimehmetoglu *et al*, 2004).

Keberadaan AFM1 pada susu dan produk olahan susu menjadi perhatian dunia terlebih lagi susu banyak dikonsumsi oleh anak-anak. Tabel 5 merangkum beberapa penelitian dari beberapa negara mengenai keberadaan dan konsentrasi AFM1 pada

produk susu terutama produk susu *UHT*. Berbagai penelitian memperlihatkan konsentrasi AFM1 pada produk olahan susu terutama susu *UHT* yang beragam. Ini membuktikan bahwa AFM1 tidak dapat dihindari keberadaannya. *European Commission (EC)* menentukan batas maksimum AFM1 produk susu *UHT* 50 ng/l (ppt), sedangkan Amerika 500 ng/l (ppt). Di Indonesia berdasarkan ketentuan BPOM (HK.00.06.1.52.4011) dan Standar Nasional Indonesia (SNI 3950-2014) batas maksimum AFM1 pada produk susu *UHT* adalah 500 ng/l (ppt), dapat dilihat pada Lampiran 7.1.

Berapa penelitian sebelumnya di Indonesia tentang keberadaan AFM1 pada susu dirangkum dalam Tabel 6. Penelitian di Pangalengan (Bandung) dan Bogor, Provinsi Jawa Barat, kandungan AFM1 pada susu sapi segar yang positif mengandung AFM1 adalah 78,38% (29 dari 37 sampel) dengan rentang konsentrasi 0,001 – 1,2 µg/L (ppb) (Widiastuti *et al*, 2006). Penelitian lain di Provinsi Yogyakarta pada 113 sampel susu sapi segar didapati mengandung AFM1 dengan konsentrasi kurang dari 5 ng/L sebanyak 48 sampel (42,5%) , 5-10 ng/L sebanyak 31 sampel (27,4%), lebih dari 10 ng/L sebanyak 34 sampel (30,1%) (Nuryono *et al*, 2009). Nurhayati (2014), mendeteksi kandungan AFM1 pada susu pasteurisasi di Jakarta dan sekitarnya positif mengandung AFM1 57 dari 60 sampel (95%) dengan rentang kadar 20,77- 458,87 ppt.

Penelitian lain di Indonesia menemukan kadar AFM1 dalam beberapa macam produk susu di Provinsi Yogyakarta didapati bahwa dari 20 sampel susu segar, 16 sampel susu pasteurisasi dan 6 sampel susu rekombinasi positif terkontaminasi AFM1 yaitu 95,5% dengan rentang kadar 24-570 ng/L. Susu Rekombinasi adalah produk susu *UHT* komersial dan didapati rata-rata konsentrasi AFM1 131 ng/L dan semua sampel positif mengandung AFM1. Ini menjadi perhatian karena susu rekombinasi merupakan produk yang paling sering dikonsumsi dan menjadi sumber paparan AFM1 (Sumantri *et al*, 2019).

Tabel 5. Penelitian Keberadaan dan Konsentrasi AFM1 pada produk olahan susu

Negara	Sampel	Jumlah sample positif	Rentang kadar AFM1 (ng/kg)	Melebihi batasan (a)	Sumber	Metode Analisa
Iran	Susu <i>UHT</i>	68 (62,3%)	5,6-515,9	19 (17,4%)	Fallah (2010)	ELISA
	Susu Pasteurisasi	83(71,5%)	5,8-528,5	31 (26,7%)		
Iran	Susu <i>UHT</i>	360 (77,7%)	75,8±9,2	76 (54,2%)	Tajik, <i>et al</i> (2016).	ELISA
Pakistan	Susu <i>UHT</i>	85 (100%)	254,9	12,90%	Yunus, <i>et al</i> (2019)	ELISA
India	Susu	232 (76,3%)	252	75	Sadia, <i>et al</i> (2012)	ELISA
Turki	Susu Pasteurisasi	75 (88,24%)	50 - 127,6	48 (64%)	Celik <i>et al</i> (2005)	ELISA
Turki	Susu <i>UHT</i>	61 (47,2 %)	0-543,64	57 (43,9%)	Unusan (2006)	ELISA
Turki	Susu <i>UHT</i>	67 (67%)	10-630	31 (31%)	Tekinsen & Eken (2008)	ELISA
Turki	Susu <i>UHT</i>	68 (75,6%)	0 - 26,6	0	Kocak, <i>et al</i> (2013)	ELISA
India	Susu <i>UHT</i>	29 (64,4%)	60-700	29 (64,4%)	Siddappa, <i>et al</i> (2012)	HPLC
	Susu Pasteurisasi	3 (2,9%)	1800 - 3800	3 (42,9%)		
China	Susu <i>UHT</i>	153 (54,9%)	6 -160	20,30%	Zheng, <i>et al</i> (2013)	ELISA
	Susu Pasteurisasi	26 (96,2%)	23-154	65,40%		
China	Susu <i>UHT</i>	70 (88,6%)	5 - 263	22 (27,8%)	Li <i>et al</i> (2017)	ELISA
Jepang	Susu Pasteurisasi	207 (99,5%)	5 -30	0	Nakajima, <i>et al</i> (2004)	HPLC
Portugal	Susu <i>UHT</i> & Pasteurisasi	11(27,5%)	6,9-69,7	3(7,5%)	Duarte, <i>et al</i> (2013)	ELISA
Spanyol	Susu <i>UHT</i>	68 (94,4%)	5 -30	0	Cano-Sancho <i>et al</i> (2010)	ELISA
Yunani	Susu <i>UHT</i>	14 (82,3%)	-	0	Roussi, <i>et al</i> (2002)	HPLC
Italia	Susu <i>UHT</i> , krim & keju	24 (42%)	5 - 18	17%	Santini, <i>et al</i> (2013)	ELISA
Brazilia	Susu <i>UHT</i>	40 (100%)	-	12 (30%)	Shundo, <i>et al</i> (2009)	HPLC
Brazilia	Susu <i>UHT</i>	23 (30,7%)	1000-4100	23 (30,7%)	Oliveira, <i>et al</i> (2013)	HPLC
Argentina	Susu Pasteurisasi	8 (50%)	-	0	Lopez, <i>et al</i> (2003)	ELISA

(a) Batas toleransi maksimum 50 ng/l

Tabel 6. Penelitian Kejadian dan Konsentrasi AFM1 pada produk olahan susu di Indonesia

Propinsi	Sampel	Jumlah sample positif AFM1	Rentang kadar AFM1 (ng/kg)	Sumber	Metode Analisa
Jawa Barat	Susu segar	29 / 37 (78,38 %)	1 - 1200	Widiastuti <i>et al</i> (2006)	HPLC
Yogyakarta	Susu segar	48 / 113 (42,5 %)	< 5	Nuryono <i>et al</i> (2009)	ELISA
		31 / 113 (27,4%)	5 - 10		
		34 / 113 (30,1%)	> 10		
Jakarta&Jawa Barat	Susu pasteurisasi	57 / 60 (95 %)	20,77 - 458,87	Nurhayati (2014)	ELISA
Yogyakarta	Susu segar, susu pasteurisasi, susu rekombinasi	40 /42 (95,2%)	24 - 570	Sumantri <i>et al</i> (2019)	ELISA
Jawa Barat& Lampung	Susu segar	22 / 104 (21,2%)	1 - 39,63	Widiatuti & Anastasia (2018)	HPLC

Keberadaan AFM1 pada produk susu yaitu produk susu *UHT* berperisa menjadi salah satu risiko keamanan pangan. Keberadaan AFM1 pada produk susu tidak diinginkan terlebih lagi pada anak-anak dimana susu menjadi salah satu produk pangan rutin dikonsumsi sehari-hari.

1.3. Tujuan Penelitian

Mengetahui keberadaan dan tingkat konsentrasi AFM1 pada produk susu *UHT* komersial dan melakukan kajian risiko keamanan pangan susu *UHT* melalui paparan konsumsi susu *UHT* komersial pada anak usia 1-12 tahun di Semarang.