

Efek Aflatoksin B1 (AFB1) pada Embrio Ayam

SJAMSUL BAHRI¹, R. WIDIASTUTI¹ dan Y. MUSTIKANINGSIH²

¹Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16151

²Universitas Nasional, Jl. Sawo Manila, Pasarminggu, Jakarta

(Diterima dewan redaksi 14 Maret 2005)

ABSTRACT

BAHRI, S., R. WIDIASTUTI and Y. MUSTIKANINGSIH. 2005. The effect of aflatoxins B1 (AFB1) on chick embryo. *JITV* 10(2): 160-168.

Aflatoxins are toxic compounds which occurred in cereals especially low qualities corn and peanuts. Aflatoxins are mutagenic, teratogenic and carcinogenic. The presence of aflatoxin in food including derived food in Indonesia had been observed, however, the observation on its toxicity effect is still limited. This research was conducted to study the effect of inoculation of aflatoxin B1 (AFB1) on the development of embryonic chicken egg, mortality and hatchability. The AFB1 was inoculated 10 µl in each 5 days age embryonic egg through air sacs dosaged 0; 15,6; 31,2; 62,5; 125 and 250 ng. The results showed that hatchability of those embryos were 66, 28, 26, 16, 0 and 0% respectively for 0; 15,6; 31,2; 62,5; 125 and 250 ng inoculation of AFB1. Inoculation of AFB1 caused malformation of the embryos, malabsorption of the yolk egg. The weight of hatched eggs was not significantly different in each group, even though there was a tendency that high AFB1 inoculation will decrease the live weight.

Key Words: Aflatoxin B1, Toxicity, Chick Embryo

ABSTRAK

BAHRI, S., R. WIDIASTUTI dan Y. MUSTIKANINGSIH. 2005. Efek Aflatoksin B1 (AFB1) pada embrio ayam. *JITV* 10(2): 160-168.

Aflatoksin merupakan senyawa toksik yang bersifat mutagenik, teratogenik, dan karsinogenik umumnya banyak dijumpai pada bahan pangan berasal dari biji-bijian seperti jagung, beras, dan kacang-kacangan yang kualitasnya kurang baik. Keberadaannya pada bahan pangan termasuk pangan asal ternak di Indonesia telah banyak diungkapkan oleh berbagai peneliti, tetapi penelitian toksisitasnya masih sangat terbatas. Penelitian efek aflatoksin B1 pada embrio ayam ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh berbagai dosis AFB1 terhadap perkembangan embrio ayam, kematian dan daya tetas embrio tersebut, sekaligus juga untuk melengkapi informasi sebelumnya. Pada penelitian ini dosis AFB1 yang digunakan adalah 0; 15,6; 31,2; 62,5; 125; dan 250 ng AFB1 per telur berembrio yang diberikan melalui kantong hawa kepada masing-masing 25 telur bertunas umur 5 hari. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa daya tetas embrio sampai hari ke-21 adalah 66, 28, 26, 16, 0 dan 0% masing-masing untuk dosis 0; 15,6; 31,2; 62,5; 125; dan 250 ng AFB1. Pemberian AFB1 juga telah menyebabkan kelainan embrio berupa pendarahan, malabsorpsi kuning telur, kekerdilan, lemah, dan cacat kaki ringan. Berat anak ayam yang berhasil menetas tidak berbeda nyata antar perlakuan walaupun ada kecenderungan lebih rendah pada pemberian AFB1 dosis tinggi.

Kata Kunci: Aflatoksin B1, Toksisitas, Embrio Ayam

PENDAHULUAN

Aflatoksin merupakan senyawa toksik yang diproduksi oleh berbagai kapang, terutama *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus* sebagai metabolit sekunder dari kapang tersebut. Dari berbagai mikotoksin, aflatoksin merupakan mikotoksin utama di Indonesia yang diketahui banyak mencemari berbagai produk pertanian seperti jagung, kacang tanah, beras, dan lain sebagainya. Pada bahan pangan dan pangan, seperti bumbu pecel, kacang atom, susu segar maupun susu pasteurisasi, dan daging ayam, hati ayam serta telur ayam dapat ditemukan kandungan aflatoksin B1 dan atau aflatoksin M1 dan aflatoksikol (AGUS *et al.*, 2001; MARYAM *et al.*, 1994; 1995; MARYAM, 1996).

Data cemaran aflatoksin yang paling banyak dilaporkan di Indonesia adalah pada pakan maupun bahan pakan ternak, khususnya pakan ternak unggas (GINTING, 1984; 1986; BAHRI *et al.*, 1994; WIDIASTUTI *et al.*, 1988). Dari berbagai penelitian diketahui bahwa persentase kejadian cemaran aflatoksin pada pakan ternak di Indonesia sekitar 80% dengan kadar yang bervariasi (GINTING, 1988; BAHRI *et al.*, 1994; 1995). Keberadaan aflatoksin pada pakan ini akan menyebabkan terpaparnya ternak unggas terutama ayam yang mengkonsumsi pakan tersebut, sehingga dikhawatirkan mengganggu produktivitas dan kesehatan ternak tersebut.

Terhambatnya pembentukan kekebalan tubuh ayam sebagai akibat pengaruh aflatoksin telah dibuktikan oleh AZAM dan GABAL (1998) serta GABAL

dan AZAM (1998). Pemberian pakan komersial yang mengandung 200 ppb aflatoksin selama 4 bulan telah menyebabkan rendahnya titer antibodi terhadap ND, IB dan IBD dibandingkan titer antibodi pada ayam kontrol yang diberi pakan tidak mengandung aflatoksin. Pengaruh immunosupresif dari aflatoksin ini sebetulnya sudah banyak dilaporkan sebelumnya, yaitu dengan adanya hubungan antara ayam yang mengkonsumsi pakan tercemar aflatoksin dengan kepekaan terhadap berbagai serangan penyakit infeksius, seperti penyakit Mareks, Parathypoid dan IBD.

Terganggunya sistem kekebalan (daya imunitas) ayam juga telah dibuktikan pada ayam-ayam anak yang menetas dari telur yang terekpose AFB1. Walaupun ayam tersebut dapat tumbuh dan berkembang cukup baik, tetapi sistem imunitas/kekebalannya menjadi terganggu, terutama pada sistem CMI (DIETERT *et al.*, 1985; GHOSH *et al.*, 1991; YAROSHENKO *et al.*, 2003). Penelitian titer antibodi terhadap penyakit ND pada ayam yang menetas dari telur yang diinokulasi dengan aflatoksin B1 telah dilakukan di Indonesia (WIDIASTUTI *et al.*, 1996). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa titer antibodi ND dari ayam-ayam tersebut lebih rendah daripada ayam yang tidak terekspose aflatoksin.

Pengaruh aflatoksin terhadap toksisitas dan perkembangan embrio telah banyak dilaporkan oleh berbagai peneliti di luar negeri (TIWARY *et al.*, 1989; EDRINGTON dan HARVEY, 1993; CELLIK *et al.*, 2000). Dengan dijumpainya kandungan aflatoksin pada pakan ayam, telur ayam dan telur itik di Indonesia, dikhawatirkan akan mempengaruhi daya tetas telur maupun perkembangan embrio tersebut. Penelitian toksisitas aflatoksin pada embrio ayam untuk kondisi Indonesia belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu untuk melengkapi informasi tersebut, maka telah dilakukan penelitian pengaruh aflatoksin terhadap daya tetas dan perkembangan embrio ayam yang hasilnya disajikan pada makalah ini.

MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan 260 telur ayam bertunas berumur 5 hari sebagai model dalam mempelajari efek toksik (termasuk efek teratogenik) dari senyawa aflatoksin. Senyawa aflatoksin B1 (AFB1) standar yang dipergunakan diperoleh dari Sigma, sedangkan pelarut aflatoksin yang akan digunakan adalah 1,2 *propanediol* (propilenglikol) yang harus diuji dahulu keamanannya dengan membandingkannya dengan pelarut alkohol 10%, asam asetat, dan diklorometan serta akuades. Alkohol 70% serta yodium 5% digunakan sebagai desinfektan pada waktu telur bertunas akan diberi perlakuan (dilubangi), sedangkan parafin cair digunakan untuk menutup lubang pada telur bertunas yang telah diberi perlakuan. Untuk mempelajari perubahan bentuk tulang kerangka dari

embrio, maka digunakan larutan alizarin merah yang dibuat dari campuran senyawa kimia sebagai berikut: asam asetat 50%; gliserol; kloral hidrat 1%; KOH 1-2%; formalin 0,2%; alkohol 70% dan 90% dan larutan stok alizarin merah.

Uji keamanan (toksisitas) senyawa pelarut aflatoksin terhadap embrio ayam

Kegiatan ini dimaksudkan untuk mengetahui bahwa senyawa pelarut aflatoksin yang dipergunakan tidak menimbulkan efek toksik terhadap embrio, sehingga dengan demikian dapat dipastikan bahwa terjadinya perubahan pada embrio yang mendapat perlakuan bukan karena efek dari pelarut aflatoksin, tetapi karena pengaruh dari AFB1 yang diberikan. Untuk itu dilakukan penelitian pendahuluan dengan mencoba empat (4) macam pelarut, yaitu: propilenglikol, diklorometan, asam asetat, dan alkohol 10%. Selain itu ditambahkan juga perlakuan berupa pemberian larutan akuades sebagai kontrol atau pembandingan untuk melihat apakah ada pengaruh cara pemberian perlakuan (melubangi telur dan memberikan perlakuan pada kantung udara) terhadap perkembangan embrio ayam umur 5 hari. Sebagai kontrol negatif digunakan juga telur bertunas umur 5 hari tanpa dilubangi dan tanpa disuntik/diberi larutan apapun.

Dengan demikian dalam uji keamanan (toksisitas) berbagai pelarut aflatoksin ini, terdapat 6 (enam) macam perlakuan, yaitu: (1) propilenglikol atau 1,2 *propanediol*; (2) diklorometan; (3) asam asetat; (4) alkohol 10%; (5) akuades; dan (6) tanpa diberi apa-apa. Masing-masing perlakuan diberikan kepada 10 telur ayam bertunas umur 5 hari, sehingga jumlah telur bertunas yang digunakan pada penelitian pendahuluan ini sebanyak 60 butir.

Pelarut (perlakuan 1 sampai dengan 5) diberikan ke dalam telur bertunas pada rute kantung udara dengan menggunakan jarum suntik ukuran 1 ml melalui lubang yang dibuat dengan menggunakan alat pelubang telur, setelah itu lubang ditutup dengan parafin cair. Volume masing-masing pelarut sebesar 10 μ l, sedangkan pada kontrol negatif (perlakuan 6), telur bertunas sama sekali tidak diapa-apakan. Selanjutnya telur diinkubasi dalam inkubator (mesin penetas telur) pada suhu 38°C dan kelembaban relatif 68-78%. Telur diputar posisinya sebanyak 2 kali dalam sehari, sedangkan untuk mengetahui perkembangan embrio, dilakukan pemeriksaan (*candling*) sebanyak dua hari sekali sampai hari ke-15, sehingga embrio yang mati akan diketahui.

Mulai hari ke-16 sampai dengan masa menetas (sekitar 21 hari), pemutaran posisi telur dan pemeriksaan (*candling*) perkembangan embrio dihentikan. Selanjutnya pada hari ke-21 telur diperiksa dan dihitung banyaknya telur yang menetas dari tiap-

tiap kelompok perlakuan dan kontrol. Tingkat toksisitas pelarut akan diketahui berdasarkan rendahnya persentase telur yang menetas (semakin rendah persentase embrio yang menetas maka semakin toksik pelarut tersebut). Atau semakin tinggi angka persentase embrio yang mati/tidak menetas, menunjukkan semakin toksik pelarut tersebut.

Efek pemberian aflatoksin B1 (AFB1) terhadap embrio ayam

Untuk mengetahui efek aflatoksin B1 terhadap perkembangan embrio ayam, maka dirancang suatu percobaan dengan memberikan serangkaian dosis AFB1 pada sejumlah telur ayam bertunas. Dalam hal ini perlakuan terdiri dari 6 (enam) tingkat dosis AFB1 yaitu: (1) kontrol (0 ng AFB1/telur); (2) 15,6 ng AFB1/telur; (3) 31,2 ng AFB1/telur; (4) 62,5 ng AFB1/telur; (5) 125 ng AFB1/ telur; dan (6) 250 ng AFB1/telur. Penentuan dosis ini didasarkan dari penelitian yang pernah dilakukan VERRET dan MARLIAC (1964).

Berdasarkan penelitian uji toksisitas pelarut yang telah dilakukan diketahui bahwa pelarut yang relatif aman untuk digunakan sebagai pelarut AFB1 adalah propilenglikol (1,2 propanediol). Oleh karena itu dalam penelitian ini AFB1 dilarutkan dalam propilenglikol. Volume larutan dari masing-masing dosis perlakuan telah ditetapkan sebesar 10 µl/telur dengan rute pada kantong udara. Untuk mendapatkan dosis perlakuan mulai dari 250; 125; 62,5; 31,2 dan 15,6 ng AFB1/telur dalam volume 10 µl, maka dibuat dahulu larutan standar 1 mg AFB1 dalam 10 ml propilenglikol (100 µg AFB1/ml). Kemudian buat pengenceran berseri menjadi 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 dan 1,56 µg/ml. Dengan demikian 10 µl dari larutan yang 25 µg/ml akan mengandung 250 ng AFB1. Demikian juga dengan larutan yang 12,5; 6,25; 3,12 dan 1,56 µg/ml masing-masing dalam 10 µl akan mengandung 125; 62,5; 31,2 dan 15,6 ng AFB1.

Masing-masing perlakuan (perlakuan 2 sampai dengan 6) disuntikan pada 25 butir telur ayam bertunas umur 5 hari pada rute kantong udara dengan volume 10 µl/telur. Pada kontrol (perlakuan 1) hanya disuntik larutan propilenglikol tanpa AFB1 dengan volume yang sama 10 µl pada telur ayam bertunas umur 5 hari. Lubang bekas penyuntikan ditutup kembali dengan parafin cair dan diinkubasi dalam mesin penetas serta diamati (*candling*) dua hari sekali seperti pada penelitian pendahuluan.

Pada umur 13 hari, dilakukan pengamatan terhadap morfologi embrio dan kemungkinan adanya kelainan-kelainan pada semua perlakuan, masing-masing dua butir telur dipecahkan. Sisanya dilanjutkan dengan menginkubasi pada mesin penetas sampai hari ke-21. Selama waktu tersebut telur diamati dan dicatat jumlah

yang mengalami kematian dan yang berhasil menetas pada akhir masa inkubasi. Anak ayam yang baru lahir (DOC) ditimbang beratnya dan diamati terhadap kemungkinan adanya kelainan morfologi. Untuk memudahkan pengamatan pada embrio dilakukan pewarnaan Alizarin merah.

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) sederhana dengan 6 (enam) perlakuan. Untuk melihat pengaruh perlakuan terhadap bobot ayam anak yang baru lahir (DOC), data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam. Sedangkan data lainnya disajikan berdasarkan persentase kematian embrio dengan membandingkan antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji keamanan (toksisitas) senyawa pelarut aflatoksin terhadap embrio ayam

Hasil uji toksisitas dari empat macam senyawa pelarut aflatoksin terhadap embrio ayam dapat dilihat pada Tabel 1. Dari data pada tabel tersebut terlihat bahwa pelarut diklorometan merupakan pelarut yang paling toksik karena tidak ada satu pun dari 10 embrio yang berhasil menetas. Kemudian diikuti oleh pelarut asam asetat yang hanya 20% saja dari 10 embrio yang berhasil menetas, selanjutnya pelarut alkohol 10% agak kurang toksik dibandingkan dengan kedua pelarut sebelumnya, dimana embrio yang berhasil menetas mencapai 50%. Sedangkan pelarut propilenglikol dapat memberikan persentase penetasan yang tertinggi, mencapai 80% (8 dari 10). Angka 80% ini dapat dikategorikan normal secara rata-rata. Bahkan sebenarnya pada dua embrio yang dianggap tidak menetas tersebut hanya karena kesulitan pada saat menjelang menetas. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa propilenglikol sebagai pelarut aflatoksin merupakan senyawa yang tidak toksik terhadap embrio ayam, sehingga dapat dipergunakan untuk penelitian selanjutnya. Hal demikian juga sesuai dengan yang dilaporkan VERRET dan MARLIAC (1964).

Tabel 1. Pengaruh senyawa pelarut AFB1 terhadap daya tetas embrio ayam

Jenis pelarut	Persentase embrio menetas
Diklorometan	0
Asam asetat	20
Alkohol 10%	50
Propilenglikol	80
Akuades steril	100
Kontrol tidak diberi apa-apa	100

Pada Tabel 1 juga terlihat bahwa pemberian akuades steril sama sekali tidak mempengaruhi penetasan embrio. Dalam hal ini persentase embrio yang menetas mencapai 100% sama seperti telur bertunas yang tidak diapa-apakan. Dengan demikian dapat dipastikan bahwa pelubangan telur dan pemberian larutan/cairan dalam kantong udara sama sekali tidak mempengaruhi daya tetas embrio. Dengan demikian pada percobaan selanjutnya diharapkan tidak ada pengaruh fisik/pelubangan dan pemberian larutan pada kantong udara terhadap embrio, sehingga perubahan-perubahan yang terjadi benar-benar akibat senyawa AFB1.

Efek pemberian aflatoksin B1 (AFB1) terhadap embrio ayam

Pengaruhnya terhadap kematian embrio dan daya tetas

Hasil yang diperoleh pada pemberian berbagai dosis AFB1 terhadap perkembangan embrio ayam dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3. Data Tabel 2 memperlihatkan bahwa pada pemberian 250 ng AFB1 seluruh embrio (25) telah mati dalam waktu 4 hari setelah perlakuan (pada umur 9 hari). Pemberian dosis 125 ng AFB1 menimbulkan kematian pada 17 embrio (68%) dan masih menyisakan 8 embrio (32%) yang hidup pada umur 9 hari, namun pada umur 12 hari seluruh embrio telah mati. Hasil ini berbeda dengan yang dilakukan CILEVICI *et al.* (1980), bahwa pemberian sekitar 100 ng AFB1 pada telur bertunas umur 4 hari, hanya menyebabkan kematian embrio sebesar 26%, sedangkan pemberian sekitar 500 ng AFB1 menyebabkan kematian embrio sebesar 35%. Perbedaan ini kemungkinan karena rendahnya daya tetas dari telur ayam berembrio yang digunakan dalam penelitian ini seperti yang ditunjukkan pada kelompok kontrol (Tabel 2).

Pada penelitian ini terlihat bahwa semakin tinggi dosis aflatoksin yang diberikan akan semakin banyak embrio yang mati atau semakin sedikit embrio yang menetas. Hal serupa telah dilaporkan CELIK *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa pemberian 0, 10, 100, dan 1000 ng aflatoksin total (AF) maupun AFB1 telah menyebabkan kematian embrio secara bertingkat. Semakin tinggi dosis aflatoksin, semakin banyak embrio ayam yang mati, demikian juga dengan kematian awal embrio-embrio tersebut. CELIK *et al.* (2000) juga mengungkapkan bahwa efek toksisitas terhadap embrio lebih tinggi pada AFB1 dibandingkan aflatoksin total pada dosis yang sama. Hal ini memperkuat informasi sebelumnya bahwa penyebab toksik utama dari aflatoksin adalah AFB1. VESELY *et al.* (1983) dalam penelitiannya juga memperlihatkan bahwa AFB1 lebih toksik daripada AFG1, dan AFG1 lebih toksik daripada AFB2 maupun AFG2 pada embrio ayam.

Pada dosis 62,5 ng AFB1 juga menimbulkan kematian pada 17 embrio (68%) dan masih terdapat 8 embrio (32%) yang hidup pada umur 9 hari, sedangkan pada umur 12 hari jumlah embrio yang mati menjadi 21 (84%). Dengan perkataan lain, yang hidup tinggal 4 embrio dan dapat bertahan hidup sampai umur 21 hari, atau hanya 16% dari jumlah 25 telur bertunas. Pada dosis 31,2 ng dan 15,6 ng jumlah embrio yang mati pada umur 9 hari adalah sama yakni 14 embrio (56%) dan yang bertahan hidup hanya 11 embrio (44%). Pada umur 21 hari kematian embrio bertambah masing-masing menjadi 19 (76%) dan 18 (72%), sehingga yang hidup masing-masing 6 (24%) dan 7 (28%) embrio sampai menetas. Sedangkan pada kontrol jumlah embrio yang mati pada umur 9 hari hanya 3 (16,67%) dan yang hidup 15 embrio (83,33%), dan jumlah yang mati terus bertambah sehingga pada umur 21 hari jumlah embrio yang mati menjadi 6 (33,33%) dan yang bertahan hidup tinggal 12 atau 66%.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan AFB1 terhadap kematian embrio dan daya tetas telur

Perlakuan	Jumlah telur	Jumlah embrio mati pada umur			Embrio menetas	
		9 hari	12 hari	21 hari	Jumlah	Persentase (%)
Kontrol	18	3	4*	6	12	66
15,6 ng AFB1	25	14	16*	18	7	28
31,2 ng AFB1	25	14	17*	19	6	24
62,5 ng AFB1	25	17	19*	21	4	16
125 ng AFB1	25	17	23*	-	-	0
250 ng AFB1	25	25	-	-	-	0

* dari masing-masing perlakuan diamati dua embrio pada umur 13 hari dengan membuka kerabang telur

Pada penelitian ini tampaknya daya tetas telur relatif lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian pendahuluan (uji toksisitas pelarut aflatoksin) dimana pada kelompok kontrol persentase menetasnya dapat mencapai 100%. Demikian juga dengan hasil penelitian yang dilakukan CILEVICI *et al.* (1980) bahwa kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan hampir semuanya hidup, hanya 6,6% terjadi kematian embrio. Pada penelitian ini persentase menetas dari kelompok kontrol hanya mencapai 66% atau terjadi kematian embrio sebesar 34%. Namun demikian bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan persentase menetas pada kelompok kontrol cukup tinggi.

Kematian embrio yang cukup signifikan ini kemungkinan juga disebabkan oleh karena kepekaan dari strain telur ayam berembrio yang digunakan pada penelitian ini, terutama terhadap dosis AFB1 yang relatif tinggi seperti dosis 250, 125 ng, maupun dosis 62,5 ng. Dosis 15,6 ng AFB1 sebenarnya sudah berada jauh di bawah LD50 menurut VERRET dan MARLIAC (1964), namun demikian persentase embrio hidup sampai menetas hanya 28%.

MARYAM *et al.* (1994) dalam penelitiannya mengungkapkan kandungan AFB1 pada telur ayam ras asal Blitar, Jawa Timur sebesar 0,2 ppb, pada telur itik kandungan AFB1 sebesar 0,37 ppb, sedangkan kandungan AFB1 pada telur ayam ras asal Jawa Barat (Bandung dan Cianjur) berada di bawah 0,1 ppb (MARYAM *et al.* 1995). Kandungan AFB1 sebesar 0,2 ppb pada telur setara dengan 0,2 ng AFB1 per gram telur, atau bila berat telur 50 g, maka kandungan AFB1 setara dengan 10 ng/telur. Dengan perhitungan yang sama, maka kandungan 0,37 ppb AFB1 pada telur itik, setara dengan 22,2 ng AFB1 per telur itik, jika diasumsikan berat telur itik adalah 60 g/butir.

Selain kandungan AFB1 ternyata pada telur yang sama juga ditemukan kandungan metabolit aflatoksin berupa aflatoxikol dan AFM1 yang kandungan rata-ratanya lebih besar daripada AFB1. Kandungan aflatoxikol pada telur asal lapang sebesar ini kemungkinan akan berpengaruh terhadap daya tetas dan perkembangan embrio ayam maupun itik bila dibandingkan dengan hasil penelitian ini, dimana pemberian 15,6 dan 31,2 ng AFB1 per telur berembrio telah menyebabkan penurunan daya tetas, meningkatkan kematian embrio dan terjadinya malabsorpsi kuning telur dan kelainan pada embrio ayam.

Diduga dengan kandungan sekitar 10 ng AFB1 pada telur ayam ras di lapang dapat menyebabkan terganggunya sistem pembentukan kekebalan apabila ayam anak-anak tersebut menetas (DOC) dan berkembang menjadi ayam dewasa. Hal ini didasarkan

dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh WIDIASTUTI *et al.* (1996) bahwa ayam yang menetas dari telur berembrio yang diinokulasi aflatoksin memberikan respon pembentukan titer antibodi terhadap ND lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol (yang menetas dari telur normal).

Pengaruhnya terhadap perkembangan embrio ayam

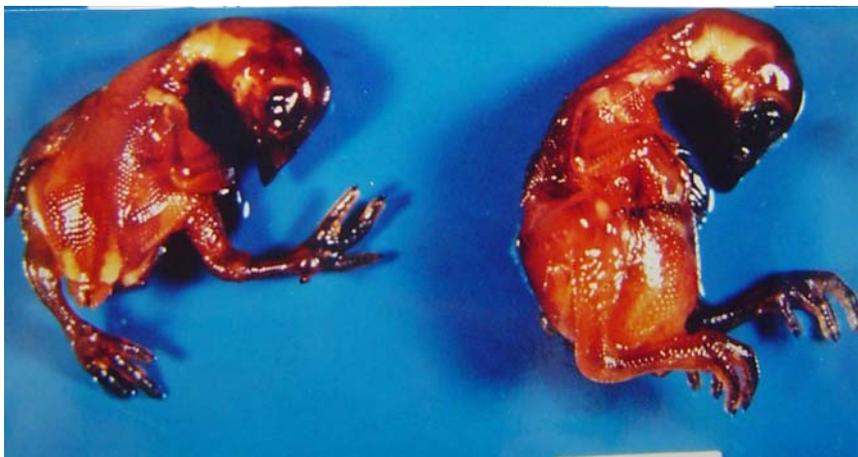
Pada pengamatan embrio umur 13 hari terlihat bahwa embrio yang mendapat perlakuan 125 ng AFB1 tampak lebih kecil dan lemah dibandingkan dengan embrio yang diberi dosis lebih rendah (Gambar 1). Terlihat juga ketidaksempurnaan pada tulang kaki. Dari pengamatan ini terdapat kecenderungan bahwa semakin tinggi dosis AFB1 yang diberikan, semakin lemah kondisi embrio yang pada akhirnya akan semakin bertambah embrio yang mati. Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan CELIK *et al.* (2000). Selain embrio lebih kecil dan lemah pada dosis yang besar, terlihat juga jumlah kuning telur yang terabsorpsi lebih sedikit atau jumlah kuning telur yang tersisa lebih banyak dibandingkan kontrol atau perlakuan dengan dosis yang lebih rendah. Pengamatan terhadap kelainan struktur tulang/kerangka tidak dapat diamati lebih detail karena terjadi kegagalan pada proses pewarnaan Alizarin merah.

Pada pengamatan embrio yang mati pada umur 21 hari terlihat ada beberapa bentuk kelainan, antara lain terjadinya malabsorpsi kuning telur, pendarahan, dan kelainan/cacat pada kaki dari kelompok perlakuan 31,2 ng AFB1 (Gambar 3). Sedangkan ayam anak dari kelompok perlakuan 31,2 ng lainnya yang dapat menetas dengan bantuan, dijumpai juga kelainan cacat pada kakinya (Gambar 2 dan 4). Perbedaan lain pada embrio umur 21 hari antara perlakuan dengan kontrol adalah ukurannya yang relatif lebih kecil terutama pada yang diberi 62,5 ng AFB1 (Gambar 2). CILEVICI *et al.* (1980) juga melaporkan adanya kelainan pada tulang kaki, tulang sayap dan maxilla serta mandibulla embrio ayam yang diberi 0,01 dan 0,002 ppm AFB1 pada telur berembrio umur 4 hari.

Bentuk kelainan pada embrio akibat pemberian AFB1 ini menunjukkan bahwa memang senyawa aflatoksin bersifat teratogenik dan mutagenik, sebagaimana yang telah dibuktikan oleh berbagai peneliti (HOWARTH dan WYATT, 1976; DIETER *et al.*, 1985; TIWARI *et al.*, 1989). Perubahan teratologi ini merupakan bentuk yang masih ringan, tetapi secara keseluruhan anak ayam yang mendapat perlakuan AFB1 memperlihatkan kondisi yang lebih lemah walaupun masih dapat menetas, kemungkinan tidak dapat bertahan hidup lebih lama lagi.



Gambar 1. Keadaan embrio ayam (masing-masing 2 embrio setiap perlakuan) yang diamati pada umur 13 hari, terlihat semakin kecil dan lemah pada yang diberi dosis besar (berturut-turut dari kiri ke kanan: dosis 0 (kontrol); 15,6; 31,2; 62,5; dan 125 ng AFB1 per telur berembrio)



Gambar 2. Keadaan embrio yang menetas dengan bantuan pada umur 21 hari (dengan pewarnaan Alizarin merah yang tidak sempurna), terlihat tulang dan jari kaki yang agak bengkok pada yang mendapat perlakuan 31,2 ng AFB1 (kiri), sedangkan pada yang kontrol terlihat normal (kanan)



Gambar 3. Keadaan embrio yang mati pada umur 21 hari dari kelompok perlakuan 31,2 ng AFB1, terlihat adanya malabsorpsi kuning telur dan bentuk kaki yang sedikit abnormal



Gambar 4. Keadaan anak ayam yang menetas dengan bantuan dari kelompok perlakuan 31,2 ng AFB1, terlihat lemah dan kelainan pada kaki yang agak bengkok

Pengaruhnya terhadap bobot rata-rata ayam anak yang baru lahir (DOC)

Pada penelitian ini dilakukan juga pengamatan terhadap bobot rata-rata ayam anak yang baru menetas (DOC) dan pada umur 21 hari, walaupun jumlah yang berhasil menetas tidak sama jumlahnya antara perlakuan satu dengan lainnya. Dalam hal ini ayam anak yang dapat menetas, hanya dapat diamati pada kelompok kontrol sebanyak 12 ekor; perlakuan 15,6 ng sebanyak 7 ekor; perlakuan 31,2 ng sebanyak 6 ekor; dan perlakuan 62,5 ng AFB1 sebanyak 4 ekor. Data

individu bobot rata-rata DOC dari keempat kelompok perlakuan tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari data pada Tabel 3 ini terlihat bahwa walaupun bobot rata-rata DOC yang mendapat perlakuan 62,5 ng AFB1 relatif lebih ringan tetapi secara statistik belum memberikan perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$). Perbedaan yang tidak nyata ini kemungkinan dikarenakan DOC yang dapat menetas pada kelompok 62,5 ng AFB1 ini jumlahnya sangat sedikit (hanya 4 ekor).

Tabel 3. Rata-rata bobot ayam anak (DOC) yang menetas (g)

	Perlakuan pemberian aflatoksin B1 (AFB1)/telur bertunas			
	Kontrol (0 ng)	15,6 ng	31,2 ng	62,5 ng
	42,34	46,19	40,20	40,39
	40,66	49,84	46,76	41,55
	42,17	41,15	45,35	40,35
	41,27	41,53	42,41	37,55
	41,30	38,73	44,70	-
	42,00	40,18	39,35	-
	43,12	42,32	-	-
	48,36	-	-	-
	43,26	-	-	-
	39,82	-	-	-
	38,69	-	-	-
	46,59	-	-	-
Rata-rata	42,46 ^a ± 2,71	42,85 ^a ± 3,85	43,13 ^a ± 2,96	39,96 ^a ± 1,70

Huruf superskrip sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P > 0,05$)

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan ini dapat diambil kesimpulan dan saran sebagai berikut: Propilenglikol merupakan pelarut AFB1 yang relatif aman terhadap kehidupan embrio, sehingga dapat digunakan sebagai pelarut AFB1 dalam mempelajari efek AFB1 pada perkembangan embrio ayam.

Pemberian AFB1 pada telur ayam bertunas umur 5 hari akan mempengaruhi perkembangan, kehidupan dan daya tetas embrio. Semakin tinggi dosis AFB1 yang diberikan akan semakin banyak embrio yang mati. Pemberian AFB1 menyebabkan kelainan morfologi embrio berupa kelainan pada kaki, pertumbuhan terhambat, malabsorpsi kuning telur, dan pendarahan pada embrio.

Berdasarkan hasil penelitian ini diduga bahwa kandungan aflatoxin 0,2 ppb (sekitar 10 ng/telur ayam ras) dan 0,37 ppb (sekitar 22,2 ng/telur itik) yang dijumpai di lapang dapat mempengaruhi perkembangan embrio dan daya kekebalannya.

Perlu penelitian lebih lanjut dengan dosis lebih rendah dari 15,6 ng AFB1 yang dibuat secara bertingkat sehingga diharapkan embrio yang menetas dapat lebih banyak dan DOC tersebut terus diamati pertumbuhannya sampai dewasa, serta dipelajari daya kekebalannya terhadap vaksinasi dan serangan penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

- AGUS, A., C.T. NOVIANDI, S. WEDHASTRI, Y.B. MARYUDHANI, NURYONO, SARDJONO and E. RAZZAZI. 2001. Survey on aflatoxin B1 contamination of some processed peanuts purchased from market and supermarket in around Yogyakarta-Indonesia (Abstract). *In: British Mycological Society-International Symposium. Bioactive Fungal Metabolites-Impact and Exploitation. University of Wales Swansea, 22-27 th April 2001.*
- AZZAM, AH and M.A. GABAL. 1998. Aflatoxin and immunity in layer hens. *Avian Pathol.* 27: 570-577.
- BAHRI, S., YUNINGSIH, R. MARYAM dan P. ZAHARI. 1994. Cemaran aflatoxin pada pakan ayam yang diperiksa di laboratorium toksikologi Balitvet tahun 1988-1991. *Penyakit Hewan* 26: 39-42.
- BAHRI, S., R. MARYAM, R. WIDIASTUTI dan P. ZAHARI. 1995. Aflatoksikosis dan cemaran aflatoxin pada pakan serta produk ternak. Pros. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Jilid I. Cisarua, 7-8 Nopember 1995. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Bogor. hlm. 95-107.
- CELIK, I., H. OGUZ, O. DEMAT, M. BOYDAK, H.H. DONMEZ, E. SUR and F. NIZAMLIOGLU. 2000. Embryotoxicity assay of aflatoxin produced by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. *Br. Poult. Sci.* 41(4): 401-409.
- CILEVICI, D., I. CORDOS, E. GHIDUS and A. MOLDORAN. 1980. The toxic and teratogenic effect of aflatoxin B1 on the chick embryo development. *Morphol. Embryol.* 26: 309-314.
- DIETERT, R.R., M.A. QURESHI, U.C. NANNA and S.E. BLOOM. 1985. Embryonic exposure to aflatoxin B1 mutagenicity and influence on development and immunity. *Environment. Mutagen.* 7: 715-725.
- EDRINGTON, T.S., and R.B. HARVEY. 1993. Effect of AFB1 and Ochratoxin A injected in ovo on the Chick Embryo. *Poult. Sci. (Supplement)* 52(1): 114.
- GABAL, M.A. and A.H. AZZAM. 1998. Interaction of aflatoxin in feed and immunization against selected infectious disease in poultry II. Effect on one-day-old layer chicks simultaneously vaccinated against Newcastle disease, infectious bronchitis and infectious bursal disease. *Avian. Pathol.* 27: 290-295.
- GHOSH, R.C., H.V.S. CHAUHAN and G.J. JHA. 1991. Suppression of cell mediated immunity by purified aflatoxin B1 in broiler chicks. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 28: 165-172.
- GINTING, NG 1984. Aflatoxin di dalam bahan baku pakan dan pakan ayam pedaging: I. Di daerah Bogor. *Penyakit Hewan* 27: 152-155.
- GINTING, NG. 1986. Variasi kejadian dan kandungan aflatoxin pada jagung yang bersumber dari Tegal, Thailand dan Lampung pada satu pabrik makanan ternak di Bogor. *Penyakit Hewan* 18: 79.
- GINTING, NG. 1988. Sumber dan Pengaruh Aflatoxin terhadap Pertumbuhan dan Performa Lain Broiler. Disertasi. Universitas Padjajaran Bandung.
- HOWARTH, B.J.R. and R.D. WYATT. 1976. Effects of dietary aflatoxin on fertility, hatchability and progeny of broiler breeder hens. *Appl. Environ. Microbiol.* 31: 680-684.
- MARYAM, R., INDRANINGSIH, YUNINGSIH, T.B. SASTRAWIHANA dan I. NOOR. 1994. Laporan survei penelitian residu aflatoxin dan pestisida pada bahan pangan asal ternak. Laporan Penelitian Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- MARYAM, R., S. BAHRI dan P. ZAHARI. 1995. Deteksi aflatoxin B1, M1 dan aflatoxikol dalam telur ayam ras dengan kromatografi cair kinerja tinggi. Pros. Seminar Teknologi Veteriner untuk Meningkatkan Kesehatan Hewan dan Pengamanan Bahan Pangan Asal Ternak. Cisarua-Bogor, 22-24 Maret 1994. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. hlm. 412-416.
- MARYAM, R. 1996. Residu aflatoxin dan metabolitnya dalam daging dan hati ayam. Pros. Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner. Bogor, 12-13 Maret 1996. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. hlm. 336-339.

- TIWARI, R.P., J.S. VIRDI, L.K. GUPTA, S.S. SAINI and D.V. VADEHRA 1989. Development of chicks exposed to aflatoxin B1 during embryogenesis. *Indian. J. Anim. Sci.* 59: 1473-1474.
- VERRET, M.J. and MARLIAC. 1964. Use of the chicken embryo in the assay of aflatoxin. *J. Assoc. Anal. Chem.* 67: 312.
- VESELY, D., D. VESELA and R. JELINEK. 1983. Comparative assessment of the aflatoxin B1, B2, G1, G2 and M1 embryotoxicity in the chick embryo. *Toxicol. Lett.* 15: 297-300.
- WIDIASTUTI, R., S. MARYAM, B.J. BLANEY, SALFINA and D.R. STOLTZ. 1988. Corn as a source of mycotoxins in Indonesian poultry and the effectiveness of visual examination methods for detecting contamination. *Mycopathology* 102: 45-49.
- WIDIASTUTY, R., S. BAHRI dan DARMINTO. 1996. Studi pendahuluan efek immunosupresif pada ayam yang menetas dari telur berembrio yang diinokulasi dengan aflatoksin. Pros. Temu Ilmiah Nasional Bidang Veteriner. Bogor, 12-13 Maret 1996. Balai Penelitian Veteriner, Bogor. hlm. 307-310.
- YAROSHENKO, F.A., J.E. DVORSKA and P.F. SURAI. 2003. Mycotoxins in poultry production: Problems and solutions. *Poult. Int.* 42: 12-16.