

Potensi Agrozide™ bagi mengawal pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada jagung bijian simpanan (The potential of Agrozide™ to control the growth of *Aspergillus flavus* on grain corn storage)

Noor Azlina Masdor, Siti Nadzirah Padrilah, Rashid Mat Rani, Muhamad Shafiq Abd Karim, Muhammad Zaidi Abu Bakar, Ahmad Syazwan Ismail, Yahya Sahari dan Sharifah Hafiza Mohd Ramli

Pengenalan

Jagung bijian (*Zea mays* L.) merupakan sejenis tanaman jangka pendek yang berasal dari Amerika Tengah yang mempunyai tempoh penanaman 100 – 120 hari bergantung kepada jenis varieti dan mempunyai tekstur yang keras berbanding dengan jagung manis. Kini, jagung bijian telah diiktiraf di seluruh dunia sebagai makanan utama yang membekalkan tenaga untuk ternakan berdasarkan kepada kandungan nutriennya yang menepati keperluan nutrisi ternakan. Kandungan kanji serta proteinnya yang tinggi telah menjadikan jagung bijian sebagai bahan mentah utama dalam pemprosesan makanan ternakan terutama bagi makanan ayam dan khinzir dengan peratusan antara 50 – 70%. Selain itu, batang jagung bijian telah dituai menjadi sumber fiber yang baik dan murah kepada penternak ruminan kerana mempunyai kandungan serat yang tinggi.

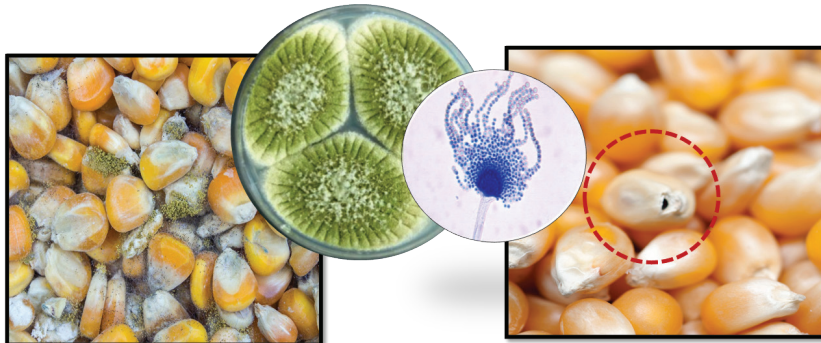
Bagi mengekalkan kualiti dan keselamatan jagung bijian, pengurusan lepas tuai terutamanya proses pengeringan memainkan peranan yang sangat penting. Sebelum disimpan, jagung bijirin perlu dikeringkan pada suhu 60 – 80 °C sehingga mencapai kandungan kelembapan kurang daripada 15%. Walau bagaimanapun, dalam sesetengah kondisi, meskipun jagung bijian telah dikeringkan, iklim Malaysia yang panas dan lembap serta jagung bijian yang bersifat 'hygroscopic' menyebabkan peratusan kelembapan meningkat terutama semasa penyimpanan dan seterusnya menggalakkan pertumbuhan fungus terutamanya *Aspergillus flavus* yang merupakan fungus berbahaya yang banyak dijumpai dalam jagung bijirin. *A. flavus* menjangkiti jagung bijian melalui spora yang terdapat di persekitaran dan saiznya yang kecil membolehkan ia tumbuh di celah-celah kernel jagung bijian yang rosak serta pecah (Gambar 1).

A. flavus dianggap sebagai fungus yang berbahaya kerana menghasilkan mikotoksin jenis aflatoksin iaitu sejenis toksin yang berbahaya kepada manusia serta ternakan. Terdapat 18 jenis aflatoksin yang dihasilkan oleh *A. flavus*, namun empat jenis aflatoksin yang paling berbahaya ialah aflatoksin B1, B2, G1 dan G2. Aflatoksin bersifat hepatoksik, teratogenik dan immuno-supresif terhadap manusia dan haiwan. Pengambilan toksin ini secara tidak langsung melalui makanan yang telah dicemari akan meninggalkan kesan yang dikenali sebagai *Mycotoxicosis* yang

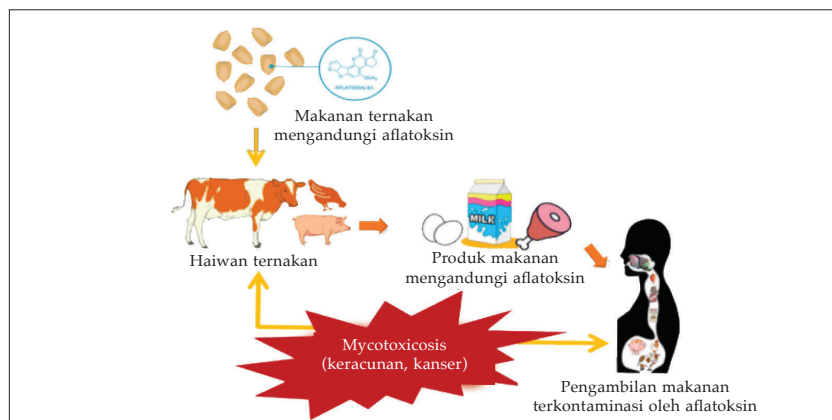
digambarkan melalui simptom seperti keracunan, pertumbuhan yang tidak sempurna dan lemah daya tahan badan terhadap penyakit mahupun kanser. Ia turut dikaitkan sebagai penyebab kepada kematian. Impak buruk yang terjadi daripada kesan kontaminasi bahan ini dalam produk makanan dan pertanian dirasai sepanjang rantaian bekalan produk, dari ladang hingga ke meja pengguna (*Gambar rajah 1*).

Pengendalian lepas tuai jagung bijian terutama yang melibatkan kaedah pengeringan serta penyimpanan yang efisien dan sistematik amat penting bagi menjamin kualiti jagung bijian yang dihasilkan. Food and Drug Administration (FDA) telah menetapkan kandungan aflatoksin dalam makanan ternakan tidak boleh melebihi 20 ppb dan sebarang pelanggaran terhadap ketetapan ini boleh menyebabkan produk yang berada di pasaran ditarik balik sekiranya didapati melebihi daripada had yang dibenarkan. Kesannya, pihak pengusaha bakal berdepan dengan kerugian.

Bagi mengatasi masalah ini, Agrozide™ iaitu nano-fungisid yang berasaskan teknologi nano telah berjaya dibangunkan untuk diaplikasikan semasa proses pengeringan jagung bijian bagi memastikan hasil tuaian jagung bijian yang disimpan adalah selamat dan bebas daripada jangkitan *A. flavus*. Melalui



Gambar 1. Pertumbuhan fungus A. flavus pada jagung bijian



Gambar rajah 1. Kesan kontaminasi aflatoksin pada ternakan dan manusia

penghasilan produk ini adalah dijangkakan kualiti jagung bijian dapat dipertingkatkan dan kadar peratusan kerosakan jagung bijian lepas tuai akibat jangkitan *A. flavus* dapat dikurangkan.

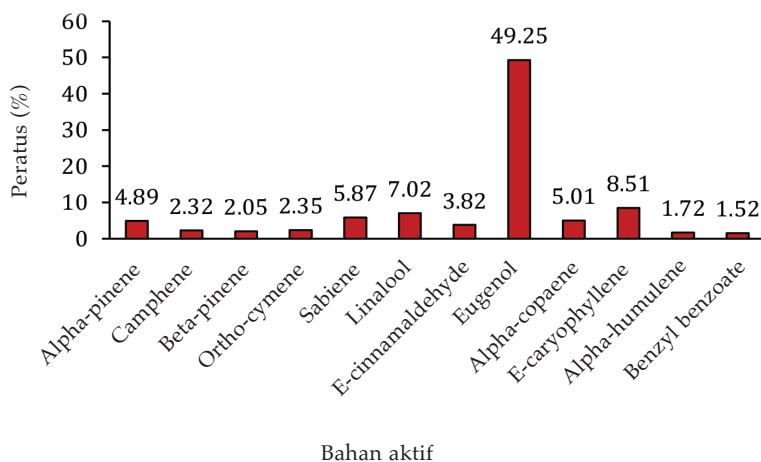
Penghasilan serta pencirian Agrozide™

Agrozide™ merupakan formulasi nano-fungisid yang terdiri daripada ekstrak tumbuhan iaitu minyak pati yang berupaya untuk mengawal pertumbuhan *A. flavus* dalam jagung bijirin simpanan dan boleh dijadikan alternatif kepada fungisid berasaskan bahan kimia yang ada di pasaran. Minyak pati merupakan sebatian kimia yang diekstrak daripada pelbagai tumbuhan aromatik yang terdapat di negara beriklim sederhana dan tropika. Minyak pati merupakan sebatian semula jadi yang sangat kompleks dan mengandungi kira-kira 20 – 60 komponen kimia pada kepekatan yang berbeza.

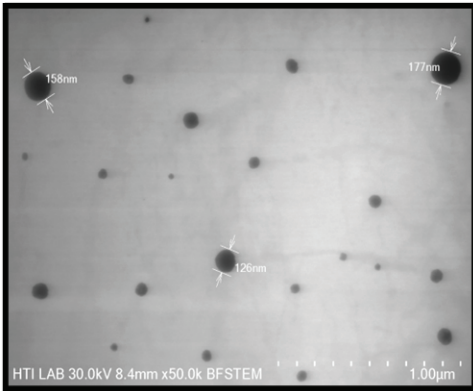
Agrozide™ dihasilkan melalui penghasilan nano-emulsi menggunakan teknik tenaga tinggi (*high energy method*). Komponen bagi formulasi Agrozide™ adalah terdiri daripada air (komponen fasa air), surfaktan (Span 80 dan Tween 80) dan minyak pati (komponen fasa minyak). Proses sonikasi sebanyak dua kali telah dijalankan terhadap larutan formulasi ini bagi menghasilkan titisan emulsi bersaiz nano.

Dalam kajian ini, minyak pati yang diekstrak daripada daun kayu manis telah digunakan sebagai agen bagi komponen dalam fasa minyak. Analisis GC-MS menunjukkan bahan aktif yang terkandung dalam minyak pati kayu manis ialah eugenol (49.25%), linalool (7%) dan E-caryophyllene (5%) yang juga merupakan agen antimikrob yang mampu untuk merencat serta melambatkan pertumbuhan *A. flavus* (Rajah 1).

Ujian pencirian ke atas formulasi Agrozide™ menggunakan mikroskop transmisi elektron (TEM) menunjukkan analisis terhadap saiz titisan nano-emulsi adalah pada saiz 150 – 300 nm



Rajah 1. Peratusan kompaun aktif yang terkandung dalam minyak pati kayu manis. Analisis adalah menggunakan alat GC-MS



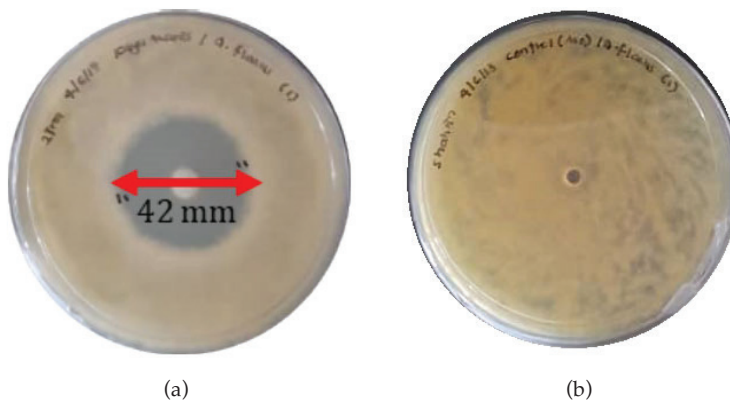
Gambar 2. Imej titisan nano-emulsi Agrozide™ yang diambil menggunakan mikroskop transmisi elektron (TEM)

(Gambar 2). Dengan titisan bersaiz nano ini membolehkan formulasi Agrozide™ menembusi bahagian kernel jagung bijian yang mengandungi spora *A. flavus* yang tersembunyi. Selain itu, ujian pencirian bagi bacaan polidispersiti Agrozide™ yang diperolehi antara 0.220 – 0.260 membuktikan keseragaman titisan nano-emulsi formulasi Agrozide™ yang terhasil.

Keberkesanan Agrozide™ juga telah diuji secara *in vitro* di peringkat makmal sebelum ujian terhadap sampel jagung bijian di lapangan diteruskan. Ujian perencatan ke atas *A. flavus* telah dijalankan menggunakan kaedah asai

agar penyebaran telaga (*agar diffusion assay*) yang diuji di atas agar dekstrosa kentang (PDA). Keputusan menunjukkan Agrozide™ berupaya untuk merencat pertumbuhan *A. flavus* berdasarkan kepada kesan perencatan yang signifikan iaitu pada 42.0 ± 0.2 mm berbanding dengan formulasi kawalan yang menggunakan minyak mineral menggantikan minyak pati daripada daun kayu manis yang tidak menunjukkan sebarang perencatan (Gambar 3).

Kajian keberkesanan Agrozide™ terhadap kawalan pertumbuhan *A. flavus* bagi sampel jagung bijian
Kajian bagi penilaian keberkesanan rawatan Agrozide™ telah dijalankan di MARDI Seberang Perai, Pulau Piang ke atas 2 tan metrik jagung bijian jenis varieti DuPont P4546 menggunakan mesin pengering (*mobile dryer*). Semasa proses rawatan dijalankan, sebanyak 10 L larutan Agrozide™ disembur menggunakan pam penyembur ke atas jagung bijian yang telah separa kering pada



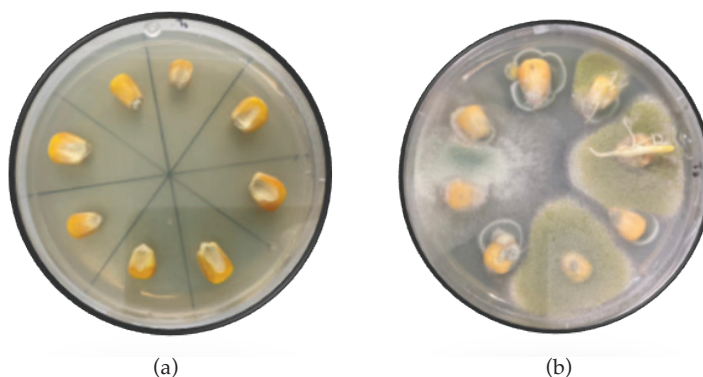
Gambar 3. Ujian perencatan terhadap *A. flavus* secara *in vitro* menggunakan (a) formulasi Agrozide™ dan dibandingkan dengan (b) kaedah kawalan. Kedua-dua sampel telah diuji di atas PDA

peratus kelembapan mencapai 13% dan pada suhu kira-kira 80 °C (Gambar 4). Semasa semburan dilakukan, jagung bijian yang berada di dalam mesin pengering sentiasa bergerak secara siklon dari atas ke bawah dan ini membolehkan semburan Agrozide™ disemur secara serata pada semua bahagian jagung bijian. Selepas semburan Agrozide™ selesai, peratus kelembapan sampel jagung bijian akan meningkat sedikit daripada 13% kepada 16%. Oleh itu, sampel jagung bijian yang dirawat dengan Agrozide™ perlu dikeringkan sekali lagi kira-kira 30 minit bagi memastikan peratusan kelembapan sampel kembali kepada 13%. Bagi sampel kawalan, sampel jagung bijian hanya dikeringkan pada suhu 80 °C sehingga mencapai 13% kelembapan tanpa sebarang semburan.

Kedua-dua sampel rawatan serta kawalan disimpan selama enam bulan pada suhu bilik (27 °C) bagi menguji keupayaan Agrozide™ menghalang pertumbuhan *A. flavus* pada sampel jagung bijian rawatan. Analisis pertumbuhan *A. flavus* dijalankan ke atas 500 sampel yang dipilih secara rawak bagi setiap bulan selama enam bulan bagi kedua-dua sampel rawatan dan kawalan diuji dengan meletakkan sampel jagung bijian di atas PDA (Gambar 5).



Gambar 4. Teknik penyemburan telah diaplikasikan di lapangan bagi menyembur larutan Agrozide™ ke atas jagung bijian. Penyemburan telah dilakukan semasa proses pengeringan



Gambar 5. Perbezaan antara (a) sampel jagung bijian yang bebas daripada pertumbuhan *A. flavus* dan (b) sampel jagung bijian yang ditumbuhi *A. flavus*

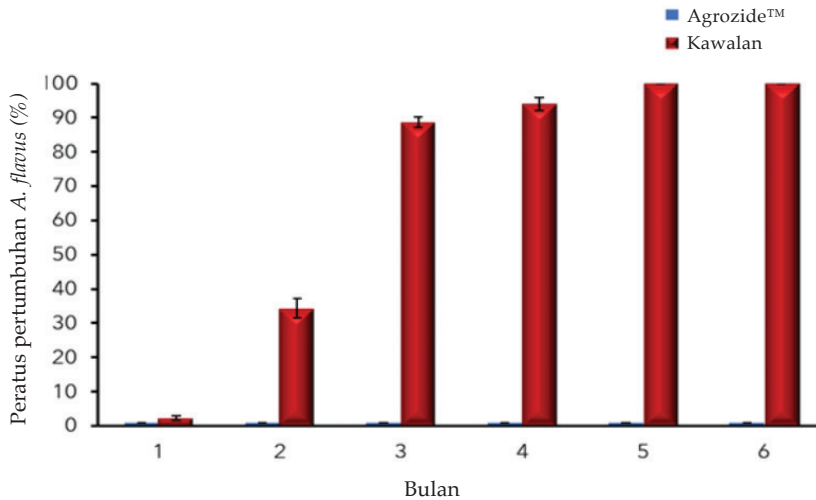
Peratus pertumbuhan *A. flavus* dikira menggunakan kaedah seperti yang berikut:

$$\% A. flavus \text{ pada sampel jagung bijian} = \frac{\text{Bilangan jagung bijian positif } A. flavus}{\text{Jumlah sampel jagung bijian yang diuji}} \times 100$$

Keputusan uji kaji terhadap 2 tan metrik jagung bijian yang dirawat dengan Agroside™ dan dikeringkan pada suhu 80 °C menunjukkan kaedah ini mampu untuk mengawal pertumbuhan *A. flavus* pada peratusan pertumbuhan kurang daripada 1% sehingga enam bulan. Sebagai perbandingan, sampel kawalan yang hanya dikeringkan pada suhu 80 °C tanpa rawatan Agroside™ telah mula ditumbuhi *A. flavus* dengan peratusan melebihi 30% bermula pada bulan kedua penyimpanan dan mencapai 100% pada bulan kelima penyimpanan (Rajah 2) (Gambar 6) .

Melalui ujian yang dijalankan terhadap kedua-dua sampel jagung bijian, telah terbukti bahawa kaedah pengeringan yang diguna pakai tidak dapat mengawal pertumbuhan fungus *A. flavus* dalam jangkamasa simpanan yang lama meskipun telah mencapai kondisi pengeringan yang optimum. Secara amnya, pertumbuhan fungus dipengaruhi oleh kelembapan dan persekitaran jagung berkenaan. Oleh itu, gabungan kaedah pengeringan yang optimum amat diperlukan untuk mengurangkan kelembapan biji-bijian berserta rawatan fungisid seperti Agroside™ amat penting untuk menghentikan perkembangan fungus terutama *A. flavus*.

Rawatan menggunakan semburan Agroside™ yang mengandungi minyak pati kayu manis sebagai bahan antimikrob mampu membasmi pertumbuhan fungus pada jagung bijian. Dalam satu kajian yang dilakukan oleh Hua et al. (2014) mendapati bahawa penggunaan minyak pati dapat mengurangkan pertumbuhan *Aspergillus ochraceus* dan Sinha et al. (1993) juga membuktikan bahawa minyak kayu manis menunjukkan tindakan perencatan yang maksimum pada pertumbuhan *A. flavus*.



Rajah 2. Perbandingan peratusan pertumbuhan *A. flavus* antara sampel jagung bijian yang dirawat dengan Agrozide™ dan sampel jagung bijian kawalan selama enam bulan penyimpanan

Tambahan pula, melalui kelebihan teknologi nano-emulsi yang digunakan bagi penghasilan formulasi ini dapat memaksimumkan fungsi antifungus daripada minyak pati berbanding dengan minyak pati yang terhasil daripada formulasi emulsi biasa. Ini kerana keberkesanan antifungus yang terhasil menggunakan kaedah nano-emulsi sangat dipengaruhi oleh komponen minyak pati, komposisi nano-emulsi dan saiz titisan nano-emulsi yang terhasil. Faktor-faktor ini boleh mempengaruhi fungsi pengangkutan komponen minyak pati ke membran sel fungus dan interaksi pemusnahan dengan pelbagai molekul pada membran sel fungus yang menyebabkan perencatan fungsi dan aktiviti fungus.

Kesimpulan

Teknologi yang menggabungkan kaedah pengeringan dengan teknologi nano yang dibangunkan ini dilihat dapat memastikan hasil tuaian jagung bijian yang disimpan adalah selamat dan bebas daripada jangkitan *A. flavus*. Secara tidak langsung, melalui penghasilan sistem ini kualiti jagung bijian dapat dipertingkatkan dan kadar peratusan kerosakan jagung bijian lepas tuai akibat jangkitan *A. flavus* dapat dikurangkan. Produk ini mensasarkan kepada pengusaha jagung bijian serta penternak ayam yang menggunakan jagung bijian sebagai sumber makanan bagi ternakan.



Gambar 6. Perbandingan secara fizikal antara sampel jagung bijian yang dirawat dengan Agrozide™ dan sampel jagung bijian kawalan selepas sebulan, tiga bulan dan enam bulan penyimpanan

Bibliografi

- Czembor, E., Stępień, Ł. dan Waškiewicz, A. (2015). Effect of environmental factors on *Fusarium* species and associated mycotoxins in maize grain grown in Poland. *PLOS ONE*, 10(7), e0133644
- Garuba, T., Abdulrahaman, A., Olan, G., Abdulkareem, K. dan Amadi, J. (2015). Effects of fungal filtrates on seed germination and leaf anatomy of maize seedlings (*Zea mays* L., Poaceae). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 18(4): 662 – 667
- Genot, C., Kabri, T.-H. dan Meynier, A. (2013). 5 - Stabilization of omega-3 oils and enriched foods using emulsifiers, (Jacobsen, C., Nielsen, N.S., Horn, A.F. dan Sørensen, A.-D.M., ed.). *Food Enrichment with Omega-3 Fatty Acids*. m.s. 150 – 193. Woodhead Publishing
- Ghosh, V., Saranya, S., Mukherjee, A. dan Chandrasekaran, N. (2013). Cinnamon oil nanoemulsion formulation by ultrasonic emulsification: Investigation of its bactericidal activity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 13(1): 114 – 122
- Gotmare, S. dan Tambe, E. (2019). Identification of chemical constituents of cinnamon bark oil by GCMS and comparative study garnered from five different countries. *Global Journal of Science Frontier Research: C Biological Science* 19(1): 35 – 42
- Hua, H., Xing, F., Selvaraj, J.N., Wang, Y., Zhao, Y., Zhou, L., Liu, X. dan Liu, Y. (2014). Inhibitory effect of essential oils on *Aspergillus ochraceus* growth and ochratoxin A production. *PLoS ONE*, 9(9), e108285
- Isailović, T. M., Todosijević, M.N., Đorđević, S. M. dan Savić, S.D. (2017). Chapter 7 - Natural Surfactants-Based Micro/Nanoemulsion Systems for NSAIDs—Practical Formulation Approach, Physicochemical and Biopharmaceutical Characteristics/Performances. Dalam: *Microsized and Nanosized Carriers for Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs* (Čalijski, B., ed.), m.s. 179 – 217. Academic Press
- Koch, E., Zink, P., Pfeiffer, T., von Galen, A., Linkies, A., Drechsel, J. dan Birr, T. (2020). Artificial inoculation methods for testing microorganisms as control agents of seed- and soil-borne *Fusarium*-seedling blight of maize. *Journal of Plant Diseases and Protection* 127(6): 883 – 893
- Miastkowska, M., Michalczyk, A., Figacz, K. dan Sikora, E. (2020). Nanoformulations as a modern form of biofungicide. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 18(1): 119 – 128
- Nirmal, N.P., Mereddy, R., Li, L. dan Sultanbawa, Y. (2018). Formulation, characterisation and antibacterial activity of lemon myrtle and anise myrtle essential oil in water nanoemulsion. *Food Chemistry* 254: 1 – 7
- Restu, W.K., Sampora, Y., Meliana, Y. dan Haryono, A. (2015). Effect of accelerated stability test on characteristics of emulsion systems with chitosan as a stabilizer. *Procedia Chemistry* 16: 171 – 176

- Sinha, K.K., Sinha, A.K. dan Prasad, G. (1993). The effect of clove and cinnamon oils on growth of and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Letters in Applied Microbiology* 16(3): 114 – 117
- Sylvester, W.S., Son, R., Lew, K.F. dan Rukayadi, Y. (2015). Antibacterial activity of java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) extract against *Klebsiella pneumoniae* isolated from several vegetables. *International Food Research Journal* 22: 1770 – 1776
- Tsedaley, B. dan Adugna, G. (2016). Detection of fungi Infecting maize (*Zea mays* L.) seeds in different storages around Jimma, Southwestern Ethiopia. *Journal of Plant Pathology & Microbiology* 07(03): 1 – 6
- Zheng, Y., Zheng, M., Ma, Z., Xin, B., Guo, R. dan Xu, X. (2015). 8 - Sugar Fatty Acid Esters. Dalam: *Polar Lipids* (Ahmad, M.U. dan Xu, X., ed.), m.s. 215 – 243. Elsevier

Ringkasan

Jagung bijirin (*Zea mays* L.) telah diiktiraf di seluruh dunia sebagai makanan utama yang membekalkan tenaga dalam diet ternakan yang menepati keperluan. Bagi mengekalkan kualiti dan keselamatan jagung bijirin, pengurusan lepas tuai terutamanya proses pengeringan memainkan peranan yang sangat penting. Sebelum disimpan, jagung bijirin perlu dikeringkan pada suhu 60 – 80 °C sehingga mencapai kandungan kelembapan kurang daripada 15%. Walau bagaimanapun, dalam sesetengah kondisi, meskipun jagung bijirin telah dikeringkan, namun pendedahan kepada persekitaran yang lembap semasa penyimpanan boleh menyebabkan penyerapan air berlaku dan seterusnya menggalakkan kepada pertumbuhan fungus terutamanya *Aspergillus flavus* yang merupakan fungus berbahaya yang banyak dijumpai di dalam jagung bijirin. Agrozide™, merupakan nano-fungisid baharu yang terdiri daripada ekstrak tumbuhan yang berupaya untuk mengawal pertumbuhan *A. flavus* dalam jagung bijirin simpanan dan boleh dijadikan alternatif kepada fungisid berasaskan bahan kimia yang ada di pasaran. Dengan penggunaan Agrozide™, dijangkakan kerugian akibat pencemaran *A. flavus* di dalam jagung bijirin simpanan dapat dikurangkan.

Summary

Grain corn (*Zea mays* L.) is recognised worldwide as a major energy feed ingredient in the diets of poultry due to a combination of desirable nutritional values. To maintain the good quality and safety of grain corn, post-harvest management of the drying process plays a major role. Grain corn needs to be dried at the temperature range from 60 – 80 °C and achieved a moisture content below 15% before it can proceed for storage. However, exposure to moist and humid conditions during storage and the presence of broken kernels will cause the absorption of water, encouraging fungal growth such as *Aspergillus flavus*, a common fungal species in grain corn. *A. flavus* produces aflatoxin a hepatotoxic, teratogenic and immunosuppressive to humans and animals. Agrozide™, a new effective nano-fungicide containing natural ingredients to control the growth of *A. flavus* in stored grain corn is an excellent alternative to the use of toxic chemical fungicides. It is expected with the application of Agrozide™, the revenue losses in the corn grain industry due to fungal contamination can be reduced.

Pengarang

Noor Azlina Masdor (Dr.)

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: azlina@mardi.gov.my

Siti Nadzirah Padrilah, Rashid Mat Rani, Muhamad Shafiq Abd Karim,
Muhammad Zaidi Abu Bakar dan Ahmad Syazwan Ismail

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Yahya Sahari dan Sharifah Hafiza Mohd Ramli

Pusat Penyelidikan Kejuruteraan, Ibu Pejabat MARDI
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor