

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Keamanan Pangan

Menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia nomor 28 tahun 2004, pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun yang tidak diolah, yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan/atau pembuatan makanan atau minuman.

Memperoleh makanan yang cukup, bergizi, dan aman adalah hak setiap manusia, setidaknya itulah yang telah dideklarasikan oleh *FHO/WHO* dalam *International Conference on Nutrition* (Deklarasi Roma) pada tahun 1992. Pangan yang aman adalah pangan yang terbebas dari cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia (Kementrian Pertanian RI, 2013).

Melihat UU No. 7 tahun 1996, tentang pangan maka diperlukan pengawasan terhadap segala kemungkinan cemaran biologi (mikrobiologi), kimia, dan benda-benda lain yang tidak dibenarkan dan dapat merugikan kesehatan manusia. Pada dasarnya keamanan pangan (*food safety*) merupakan hal yang kompleks dan berkaitan erat dengan aspek toksisitas, mikrobiologis, kimia, status gizi dan kesehatan jiwa. Masalah keamanan pangan bersifat dinamis seiring

dengan berkembangnya peradaban manusia yang meliputi aspek sosial budaya, kesehatan, kemajuan IPTEK dan segala yang terkait dengan kehidupan manusia.

1.1.1 Keamanan Pangan Ternak

Pangan asal ternak sangat dibutuhkan untuk kesehatan manusia, dan sebagai sumber protein. Protein hewani sangat penting bagi manusia karena mengandung asam amino yang lebih mendekati susunan asam amino yang dibutuhkan manusia sehingga mudah dicerna. Meskipun protein hewani sangat dibutuhkan, produk ternak dapat menjadi berbahaya bagi kesehatan manusia bila tidak terjamin keamanannya. Oleh karena itu, keamanan pangan bagi masyarakat merupakan syarat utama yang mutlak. Beberapa kasus penyakit dan cemaran sempat terjadi di beberapa belahan dunia seperti cemaran dioksin yang merupakan bahan kimia beracun pada produk ternak di Belgia dan Belanda pada tahun 2001, dan kasus penyakit antraks pada domba dan kambing di Indonesia pada tahun 2001 (Noor et al., 2001).

Keberadaan berbagai residu obat hewan seperti antibiotika, pestisida, mikotoksin dan hormon pada produk ternak baik daging, susu, dan telur sudah banyak dilaporkan dari berbagai wilayah di Indonesia (Darsono, 1996).

1.2 Antibiotik dan Hormon pada Hewan

Sebenarnya antibiotika digunakan dalam industri peternakan dengan tujuan untuk pengobatan, agar ternak kembali sehat. Tetapi sekarang banyak antibiotika dan hormon yang disalahgunakan, yaitu digunakan sebagai imbuhan pakan. Berdasarkan struktur kimianya, antibiotika dapat digolongkan menjadi

beberapa golongan, yaitu golongan β laktam: penisilin, ampisilin; golongan aminoglikosida: gentamisin, streptomisin; golongan tetrasiklin: tetrasiklin, oksitetrasiklin; golongan makrolida: tilosin, tilmikosin; golongan peptida: basitrasin, colostin; golongan polietar: salinomisin, monensin dan golongan kloramfenikol: kloramfenikol, tiamfenikol (OKA, *et al.*, 1995).

Di Indonesia, sekitar tahun 2002, antibiotika golongan kloramfenikol yang menjadi problem karena ditemukan residunya dalam udang akibat pengobatan bakteri yang banyak dijumpai di air tambak atau ikan yang menderita *Salmonella*. Eksportir udang menderita kerugian yang cukup besar sehubungan dengan berlakunya peraturan Uni Eropa (UE) No. 001/705/EC, sejak 27 September 2001, yang menyatakan bahwa semua produk udang khususnya hasil budidaya dari negara Asia termasuk Indonesia yang diekspor ke UE harus bebas dari kloramfenikol. Sejak tahun 1982 Indonesia juga sudah melarang menggunakan kloramfenikol untuk pengobatan hewan yang akan dikonsumsi manusia dan juga imbuhan pakan pada ternak. Namun masih banyak yang tidak mengindahkan larangan ini.

Penggunaan hormon dilakukan dengan penyuntikan, penyuntikan hormon dilakukan untuk merangsang induk bertelur. Hormon yang biasanya digunakan adalah Ovaprim, hCG, dan Chorulon (Mahyuddin, 2008), dengan teknik penyuntikan secara *intrapertoneal (ip)* atau *intramuscular (im)* (Heryadi S., 1995).

1.3 Mekanisme Kerja Antibiotik dan Hormon

Antibiotika dibagi menjadi empat kategori apabila dilihat dari mekanisme kerjanya, yaitu: menghambat sintesa dinding sel, menghambat sintesa protein, menghambat fungsi asam nukleat, dan merusak fungsi membran sel (Prescott dan Baggot, 1993).

Hormon dapat memperlihatkan efek biologis apabila berinteraksi dengan sel sasaran melalui reseptor khusus bagi hormon tersebut. Reseptor khusus ini disebut reseptor hormon. Interaksi hormon dengan sel sasaran biasanya terjadi melalui pembentukan kompleks hormon-reseptor. Reseptor hormon pada sel sasaran umumnya berupa molekul protein besar dengan bentuk tiga dimensi yang unik. Reseptor tersebut hanya akan berikatan dengan hormon tertentu atau analognya, yaitu senyawa lain yang mempunyai gugus fungsi sangat mirip dengan gugus fungsi hormon yang dimaksud (Isnaeni, 2006).

1.4 Antibiotik pada Pakan Hewan

Pengobatan ikan yang sakit dapat dilakukan dengan pemberian obat antibiotik. Pengobatan dilakukan dengan cara dicampurkan dalam pakan atau dilarutkan dalam air (Cahyono, 2000). Antibiotika banyak ditambahkan ke dalam pakan, karena ini dipercaya sebagai alternatif yang dapat dilakukan dalam pembuatan pakan dengan tujuan memperbaiki konversi pakan dan kesehatan ikan sehingga pada akhirnya akan meningkatkan pertumbuhan (Afrianto, 2005).

1.5 Residu Antibiotik

Residu obat adalah obat atau metabolitnya yang terakumulasi dan tersimpan di dalam sel-sel, jaringan, atau organ, setelah hewan diperlakukan dengan obat tersebut. Obat yang diberikan akan masuk ke dalam sirkulasi darah dan berinteraksi dengan tubuh hewan. Interaksi tersebut dibedakan menjadi dua macam, yaitu:

1. Aksi obat terhadap tubuh, yang diwujudkan dalam bentuk efek obat;
2. Reaksi tubuh terhadap obat atau cara tubuh menangani senyawa eksogen.

Setelah diabsorpsi, secara simultan obat didistribusikan ke dalam tubuh. Pada umumnya, obat bersifat mudah larut dalam lemak dan dapat dengan mudah melewati membran-membran sel/jaringan, sehingga dengan cepat dapat didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh, termasuk ke organ-organ hati dan ginjal. Sisa obat harus dikeluarkan dari dalam tubuh. Pengeluaran obat terjadi melalui biotransformasi dan ekskresi. Pada biotransformasi, struktur kimia obat dirombak menjadi metabolitnya agar lebih mudah larut dalam air. Ekskresi terjadi melalui ginjal dan empedu. Laju pengeluaran obat tergantung pada jenis obat yang diberikan (Agus M., 2003).

1.6 Bahaya Residu Antibiotik dan Hormon

Dalam dunia peternakan, hewan dipelihara dengan cara khusus dan sangat modern. Hewan disuntik secara teratur dengan antibiotik agar tahan penyakit. Para

peternak sudah menggunakan antibiotik sejak lama, setidaknya sejak antibiotik dipopulerkan pada awal abad ke-20. Mereka sudah mengetahui bahwa dengan dosis rendah antibiotik yang diberikan kepada ternak setiap harinya dapat meningkatkan bobot badan ternak minimal 3% dibandingkan dengan yang tidak diberi antibiotik. Tentu saja hal ini menguntungkan peternak. Suatu studi menemukan kegunaan antibiotik, yaitu membunuh mikroba yang mengancam usus ternak sehingga makanan bisa diproses lebih efisien. Menurut ahli mikroba, Dr Glenn Morris, jika tubuh manusia tidak sengaja menerima bakteri yang berasal dari daging yang tidak matang dan menjadi sakit, maka manusia itu mungkin tidak berespon terhadap obat-obatan antibiotik (Indah, 2014).

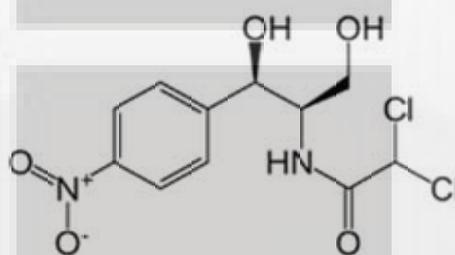
Selain antibiotik, hewan ternak juga biasa diberikan hormon penggemuk sintesis untuk memacu pertumbuhan agar hewan dapat mencapai bobot badan maksimal dalam waktu singkat. Tentu saja penggunaan hormon penggemuk ini tidak alami dan dapat memicu berbagai gangguan penyakit dan memicu terjadinya kanker dalam jangka panjang pada manusia (Indah, 2004).

Kasus hormon lainnya adalah estrogen sintetis *diethylstilbestrol*, atau DES, terdeteksi pada daging sapi pada 1960-an. Digunakan sebagai pendorong pertumbuhan dalam hewan-hewan pedaging sejak 1950-an, DES juga diberikan pada 1960-an dan 1970-an pada wanita-wanita hamil untuk mencegah keguguran. Pada 1971, ditemukan satu bentuk kanker vagina yang disebut *clearcell adenocarcinoma* dan berkembang pada anak-anak yang dilahirkan wanita-wanita itu. DES juga ditemukan menyebabkan gejala-gejala impotensi, ketidaksuburan, pembesaran payudara, atau perubahan pada tingkat nada suara di antara para

petani yang mengisap DES dalam bentuk bubuk. DES akhirnya dilarang pada 1979 setelah mengatasi keberatan dari industri obat-obatan binatang, tapi pelarangan itu tidak menghentikam penggunaannya (Moore, 2012).

1.7 Kloramfenikol

Kloramfenikol atau kloramisetin adalah antibiotik yang mempunyai spektrum luas, berasal dari jamur *Streptomyces venezuelae*, dan sekarang telah dapat dibuat secara sintetik di laboratorium (Sumardjo, 2009).



Gambar I.1 Kloramfenikol

Dalam keadaan murni, kloramfenikol mempunyai bentuk kristal jarum atau lempeng memanjang, warna putih keabu-abuan, tidak berbau dan rasanya pahit. Kloramfenikol sukar larut dalam air, mudah larut dalam metanol, etanol, etil asetat, dan aseton; serta tidak larut dalam benzen. Dalam keadaan kering, antibiotik ini stabil pada temperatur kamar. Dalam larutan, stabilitasnya masih lebih besar dari stabilitas larutan streptomisin atau larutan penisilin pada suhu yang sama (Sumardjo, 2009).

Kloramfenikol dapat digunakan untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh beberapa jenis bakteri gram positif, dan gram negatif. Antibiotik ini memiliki khasiat bakteristatik terhadap beberapa spesies; pada keadaan tertentu, kloramfenikol mempunyai khasiat bakterisid. Efek samping penggunaan antibiotik kloramfenikol yang terlalu lama dan dengan dosis berlebihan adalah anemia aplastik (Sumardjo, 2009).

1.8 Diethylstilbestrol (DES)

Diethylstilbestrol (DES) adalah suatu hormon estrogen sintetis. Pada tahun 1950-an dan 1960-an *DES* diberikan kepada wanita yang dianggap beresiko keguguran. Wanita yang ibunya pernah mendapatkan *DES* ketika mengandungnya memiliki risiko tinggi mengalami kelainan dalam organ tubuhnya (Ana, 2006), juga dapat mengalami abnormalitas organ reproduksi wanita, dan kemandulan pada wanita maupun pria (B. Curtis, 1997).

Daging yang masih mengandung *diethylstilbestrol* diyakini sebagai sumber kanker. Institut kanker Netherland mempublikasikan data hasil angket dari para anak perempuan yang ibunya mendapat *DES*, angket tersebut menunjukkan bahwa resiko karsinoma serviks invasif meningkat pada anak-anak perempuan tersebut (de Jong, 2002).

1.9 Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC/MS)

Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) merupakan satu-satunya teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa. Penggunaan LC-MS/MS untuk penelitian bio-analisis dimulai pada akhir 1980-an (Bowers, 1998). Kelebihan dari teknologi LC-MS/MS adalah (Vogeser, *et al*, 2008):

1. Spesifisitas. Hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spektrometer massa sebagai detektor
2. Aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis. Berbeda dengan GC-MS sebagai spektrometer massa “klasik”, penerapan LC-MS/MS tidak terbatas untuk molekul volatil. Mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi.
3. Fleksibilitas. Pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat.
4. Kaya informasi. Sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak parameter.

Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi mereka. Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion (*ion source*) yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa (*mass analyzer*) yang menyeleksi ion. Sistem LC-MS/MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan

dianalisa. Masing-masing *ion source* dan *mass analyzer* memiliki kelebihan dan kekurangan sehingga harus disesuaikan dengan jenis informasi yang dibutuhkan (*Agilent Technologies*, 2001).

1.10 Sumber Ion

Selama sepuluh tahun terakhir banyak kemajuan pada LC-MS/MS dalam pengembangan sumber ion dan teknik untuk mengionisasi dan memisahkan ion molekul analit dari fase geraknya. Sebelumnya LC-MS/MS menggunakan sistem antarmuka yang kurang baik dalam memisahkan molekul fase gerak dari molekul analit. Molekul-molekul analit yang terionisasi dalam spektrometer massa berada pada kondisi vakum, peristiwa semacam ini sering terjadi pada ionisasi elektron tradisional. Teknik ini berhasil hanya untuk jumlah senyawa yang sangat terbatas (*Agilent Technologies*, 2001).

Pengenalan teknik ionisasi tekanan atmosfer (*atmospheric pressure ionization / API*) sangat memperluas jumlah senyawa yang dapat dianalisis dengan LC-MS/MS. Pada teknik ionisasi tekanan atmosfer, molekul analit terionisasi terlebih dahulu pada tekanan atmosfer. Ion-ion analit tersebut kemudian secara mekanis dan elektrostatis terpisah dari inti molekul. Teknik tekanan atmosfer umumnya adalah ionisasi elektrosemprot (*electrospray ionization / ESI*), ionisasi kimia tekanan atmosfer (APCI), dan fotoionisasi tekanan atmosfer (APPI) (*Agilent Technologies*, 2001).

Dalam setiap pengukuran, sifat analit dan kondisi pemisahan memiliki pengaruh kuat untuk memberikan hasil terbaik dalam teknik ionisasi pada

elektrospray, APCI, maupun APPI. Teknik yang paling efektif tidak selalu mudah untuk diprediksi (*Agilent Technologies*, 2001).

1.11 Validasi Metode

Validasi metode menurut *United States Pharmacopeia (USP)* dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis (Gandjar dan Rohman, 2007).

1.11.1 Ketepatan (akurasi)

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konversi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan (Gandjar dan Rohman, 2007).

1.11.2 Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Sesuai dengan ICH (*the International Conference on Harmonization*), presisi harus dilakukan pada tingkatan yang berbeda yaitu: (Gandjar dan Rohman, 2007).

- a. Keterulangan yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya
- b. Presisi antara yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya.
- c. Ketertiruan merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium yang lain.

Dokumentasi presisi seharusnya mencakup: simpangan baku, simpangan baku relatif, atau koefisien variasi, dan kisaran kepercayaan (Gandjar dan Rohman, 2007).

1.11.3 Spesifisitas

Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks (Gandjar dan Rohman, 2007).

Spesifisitas dibagi menjadi dua kategori oleh ICH, yakni uji identifikasi dan uji kemurnian atau pengukuran. Untuk tujuan identifikasi, spesifisitas ditunjukkan dengan kemampuan suatu metode analisis untuk membedakan antara senyawa yang mempunyai struktur molekul yang hampir sama (Gandjar dan Rohman, 2007).

Penentuan spesifisitas metode dapat diperoleh dengan dua jalan. Yang pertama adalah dengan melakukan optimasi, sehingga diperoleh senyawa yang dituju terpisah secara sempurna dari senyawa-senyawa lain (resolusi senyawa yang dituju ≥ 2). Cara kedua untuk memperoleh spesifisitas adalah dengan menggunakan detektor selektif, terutama untuk senyawa-senyawa yang terelusi secara bersama-sama (Gandjar dan Rohman, 2007).

1.11.4 Batas Deteksi (*Limit of Detection, LOD*)

Batas deteksi adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas

uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu (Gandjar dan Rohman, 2007).

ICH mengenalkan suatu konversi metode *signal to noise ratio* ini , meskipun demikian ICH menggunakan 2 metode pilihan untuk menentukan LOD yakni: metode non instrumental visual, dan dengan metode perhitungan. Metode non instrumental visual digunakan pada teknik kromatografi lapis tipis dan pada metode titimetri. LOD juga dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (*slope*, S) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus, $LOD = 3,3 (SD/S)$. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko, pada standar deviasi residual dari garis regresi, atau standar deviasi intersep y pada garis regresi (Gandjar dan Rohman, 2007).

1.11.5 Batas Kuantifikasi (*Limit of Quantification, LOQ*)

Batas kuantifikasi adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007).

ICH juga mengenalkan metode rasio *signal to noise*, meskipun demikian sebagaimana dalam perhitungan LOD, ICH juga menggunakan 2 metode pilihan untuk menentukan LOQ yaitu: metode non instrumental visual, dan metode perhitungan (Gandjar dan Rohman, 2007).

1.11.6 Linieritas

Linearitas adalah kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang

diberikan. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gandjar dan Rohman, 2007).

