

DETEKSI KERACUNAN PADA HEWAN DENGAN METODE KOMBINASI *QUECHERS* DAN *GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GCMS)*

Santi Lestari¹, Sugeng Zunarto², Arrum Perwitasari Muladi³
email: santilestari10@gmail.com

¹ Medik Veteriner Muda, ² Paramedik Veteriner Mahir, ³ Paramedik Veteriner Mahir
BALAI BESAR VETERINER WATES YOGYAKARTA
Jalan Raya Yogya Wates Km 27, Wates, Kulonprogo, D. I. Yogyakarta

ABSTRAK

Meningkatnya penggunaan pestisida dan pemanfaatan sisa hasil pertanian dan tanaman pangan sebagai pakan ternak, serta laporan beberapa kasus kematian hewan tanpa gejala klinis penyakit, menyebabkan kecurigaan mengarah pada keracunan. Keracunan adalah salah satu penyebab kematian mendadak pada ternak. Keracunan terjadi karena ternak mengkonsumsi pakan yang mengandung racun. Kasus keracunan ini sangat berbahaya bagi ternak. Gejala klinis yang ditunjukkan dapat berbeda pada setiap individu, tergantung jenis dan jumlah zat racun yang masuk ke dalam tubuh.

Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat efektivitas penggunaan metode kombinasi *QUECHERS* dan alat GC-MS untuk mengetahui kemungkinan penyebab keracunan pada ternak, pada sampel yang dikirimkan ke BBVET Wates.

Metode penelitian ini menggunakan metode kombinasi *QUECHERS* dan alat GC-MS. Ekstraksi contoh untuk pengujian menggunakan alat *gas chromatography (GC)*, selama ini diperlukan waktu lama dan pelarut yang banyak. Metode *QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)* bertujuan mempercepat proses dan menghemat bahan kimia yang digunakan sebagai pelarut. Tahapan yang dilakukan meliputi ekstraksi menggunakan *QuEChERS Extract Pouches EN Method* dengan pelarut acetonitril dilanjutkan *clean-up* menggunakan *Dispersive SPE 15 ml*. Pembacaan ekstrak dilakukan dengan alat *GCMS-QP2010*, menggunakan fase gerak gas helium dengan kolom *Rtx® 5MS* ukuran 30 m x 0,25 mm, suhu oven 150°C (2,5 menit) secara berangsur dinaikkan menjadi 190°C (5 menit) dan 290°C (2 menit), dengan detektor *Mass Spectrometry (MS)* pada suhu *ion surface* 200°C dan *interface* 310°C. Kromatogram yang diperoleh kemudian dianalisa sampai diketahui senyawa spesifik yang diduga sebagai racun. Metode ini mampu menganalisa contoh yang berbentuk padatan maupun cairan secara kualitatif yang berasal dari hewan, pakan, atau lingkungan terhadap kemungkinan adanya senyawa beracun. Sampel yang diteliti adalah sampel yang masuk ke BBVET wates dengan indikasi keracunan selama periode Januari sampai dengan Maret 2019.

Dalam penelitian ini, sampel berupa darah, isi rumen ternak, sampel pakan, dan sampel lingkungan (air dan tanah) diperoleh dari investigasi kasus kematian pada hewan selama periode Januari sampai dengan Maret 2019.

Hasil penelitian menunjukkan dari 105 contoh yang diduga keracunan didapatkan hasil 8 contoh teridentifikasi senyawa pestisida organoklorin, 6 contoh teridentifikasi organofosfat, 4 contoh teridentifikasi senyawa arsenic dan 5 contoh teridentifikasi senyawa theobromine yang merupakan alkaloid dari tanaman cacao/coklat

Kata kunci: *ekstraksi, quechers, keracunan, pestisida, gas chromatography*

PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan zaman, manusia berfikir untuk terus mengembangkan diri dalam mencukupi kebutuhan hidupnya terutama terhadap kebutuhan pangan. Ilmu pengetahuan dan teknologi berkembang pesat dalam

rangka optimalisasi bahan pangan di Indonesia terutama penggunaan bahan kimia (pestisida) untuk pengendalian hama dan penyakit. Perkembangan pestisida sintetik dimulai antara tahun 1940 sampai 1960, terutama dari golongan organoklorin, yang mempunyai sifat persisten, terakumulasi (residu) dalam lemak dan sangat berbahaya bagi manusia (Yuningsih, dkk, 200). Hal ini menjadi perhatian serius bangsa Indonesia untuk mengatur peredaran dan penggunaan pestisida dengan keluarnya Peraturan Pemerintah No. 7 tahun 1973 (KOMISI PESTISIDA, 1997) yang mengatur bahwa pestisida yang boleh diedarkandan digunakan adalah sesuai izin Menteri Pertanian.

Penggunaan pestisida dalam kehidupan masyarakat Indonesia tidak lepas dari keadaan bangsa kita yang sebagian besar penduduknya adalah bercocok tanam. Satu sisi penggunaan pestisida dapat membantu mengendalikan serangan hama dan penyakit pada tanaman, tetapi di sisi lain penggunaan pestisida yang cenderung berlebihan dapat menimbulkan berbagai persoalan baru yang mengancam siklus kehidupan dalam lingkungan manusia yang secara langsung maupun tidak langsung akan berakibat pada kesehatan manusia. Oleh karena itu, penggunaan pestisida diatur baik peredaran maupun penggunaannya oleh negara.

Di Indonesia, sebagian besar petani memiliki hewan ternak yang dalam praktiknya memanfaatkan limbah pertanian sebagai pakan ternaknya. Apabila hewan ternak terpapar secara terus menerus pestisida yang terdapat dalam makanannya, maka harus diwaspadai tertinggalnya residu dalam jaringan otot/daging hewan ternak. Untuk melakukan pemantauan dan pengawasan tersebut, perlu dilakukan pengujian terhadap berbagai sampel hasil pertanian yang beredar di masyarakat. Oleh karena itu menjadi kewajiban Balai Besar Veteriner Wates yang salah satu tugas pokok dan fungsinya adalah *Pemberian pelayanan teknis penyidikan, pengujian veteriner dan produk hewan serta pengembangan teknik dan metode penyidikan, diagnosa dan pengujian veteriner* dikembangkanlah lingkup pengujian deteksi keracunan pada hewan.

Keracunan adalah masuknya zat racun ke dalam tubuh makhluk hidup, baik melalui saluran pencernaan, napas, kulit dan mukosa sehingga menimbulkan gejala. Dalam bidang peternakan dan kesehatan hewan, kasus keracunan ini sangat berpengaruh bagi kelangsungan hidup hewan. Menurut Putra (2019), ada 5 (lima) penyebab keracunan pada ternak yang harus diwaspadai antara lain: tanaman beracun, pencemaran pestisida, pakan berjamur, tanaman yang kekeringan, dan racun timbal. Menurut Putra (2019), ada 5 (lima) penyebab keracunan pada ternak yang harus diwaspadai antara lain: tanaman beracun, pencemaran pestisida, pakan berjamur, tanaman yang kekeringan, dan racun timbal.

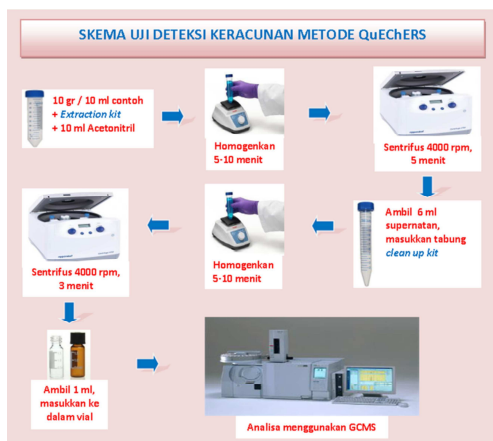
Dalam rangka penanganan kasus keracunan supaya segera dapat ditangani, maka perlu dilakukan pengembangan pengujian untuk mendeteksi

adanya keracunan. Metode QuEChERS (*Quick*: cepat, *Easy*: mudah, *Cheap*: murah, *Effective*: efektif, *Rugged*: stabil, dan *Safe*: aman) yang pertama kali diperkenalkan oleh Anastassiades pada tahun 2003, diharapkan mampu memecahkan permasalahan terkait dengan dugaan keracunan secara cepat dan tepat.

Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat efektivitas penggunaan metode kombinasi QuEChERS dan alat GC-MS untuk mengetahui kemungkinan penyebab keracunan pada ternak, pada sampel yang dikirimkan ke BBVET Wates .

MATERI DAN METODE

Sampel yang diteliti adalah sampel yang masuk ke BBVET wates dengan indikasi keracunan selama periode Januari sampai dengan Maret 2019. Dari 105 sampel yang masuk ke laboratorium kesmavet BBVET Wates ini, terdiri dari sampel aktif dan sampel pasif. Sampel aktif merupakan kiriman dari perorangan atau dinas, sedangkan sampel pasif merupakan sampel yang diambil oleh BBVET wates yang merupakan sampel hasil outbreak investigasi di lapangan. Sebagai bahan pemeriksaan adalah berupa: sampel darah, isi rumen, pakan ternak, tanah, dan air. Kemudian dilakukan pemeriksaan sampel menggunakan metode kombinasi QUECHERS dan alat GC-MS. Tahapan yang dilakukan meliputi ekstraksi menggunakan *QuEChERS Extract Pouches EN Method* dengan pelarut acetonitril dilanjutkan *clean-up* menggunakan *Dispersive SPE 15 ml*. Pembacaan ekstrak dilakukan dengan alat *GCMS-QP2010*, menggunakan fase gerak gas helium dengan kolom *Rtx[®] 5MS* ukuran 30 m x 0,25 mm, suhu oven 150°C (2,5 menit) secara berangsur dinaikkan menjadi 190°C (5 menit) dan 290°C (2 menit), dengan detektor *Mass Spectrometry (MS)* pada suhu *ion surface* 200°C dan *interface* 310°C. Kromatogram yang diperoleh kemudian dianalisa sampai diketahui senyawa spesifik yang diduga sebagai racun.



Gambar 1. Skema pengujian deteksi keracunan dengan metode QuEChERS

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa contoh menunjukkan bahwa dari 105 contoh yang diuji, 8 contoh terdeteksi pestisida golongan organoklorin, 6 contoh organofosfat, dan 4 contoh terdeteksi senyawa arsenic yang bersifat racun. Sedangkan contoh pakan yang terdeteksi senyawa theobromine ada 5 contoh. Hasil lengkap deteksi keracunan disajikan pada tabel berikut ini

Tabel 1. Hasil pengujian contoh kasus terduga keracunan

| NO | CONTOH | JENIS CONTOH | HASIL UJI TERDETEKSI | JUMLAH CONTOH | GOL/JENIS SENYAWA |
|----|--------------|--------------|----------------------|---------------|-------------------|
| 1 | Kulit Coklat | Pakan | Theobromine | 1 | Alkaloid |
| 2 | Konsentrat | Pakan | Theobromine | 4 | Alkaloid |
| 3 | Darah Sapi | Darah | Arsenous Acid | 1 | Arsenic |
| 4 | Muntahan | Lain-lain | Arsenous Acid | 2 | Arsenic |
| 5 | Air minum | Air | Arsenous Acid | 1 | Arsenic |
| 6 | Air Laut | Air | Endosulfan | 1 | Organoklorin |
| | | | Klortiofos | 1 | Organofosfat |
| 7 | Pakan | Pakan | Klortiofos | 2 | Organofosfat |
| 8 | Darah Sapi | Darah | Terbufos | 1 | Organofosfat |
| 9 | Cairan | Lain-lain | Terbufos | 1 | Organofosfat |
| | | | Endrin | 2 | Organoklorin |
| | | | Aldrin | 2 | Organoklorin |
| | | | Tebuconazole | 1 | Azole |
| | | | Tricyclazole | 1 | Azole |
| 10 | Tanah | Lain-lain | Aldrin | 1 | Organoklorin |
| | | | Lindhane | 1 | Organoklorin |
| | | | Protiofos | 1 | Organofosfat |
| 11 | Isi rumen | Lain-lain | Endosulfan | 1 | Organoklorin |

Ternak yang mengalami keracunan yang disebabkan oleh pestisida gejalanya dapat digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu golongan pertama *Irreversible* yaitu keracunan yang disebabkan oleh insektisida golongan organofosfat kondisi ini tidak dapat kembali normal dan akut. Golongan kedua *Reversible* yaitu keracunan yang disebabkan oleh pestisida golongan karbamat kondisi ini masih dapat diperbaiki menjadi normal kembali. Golongan yang ketiga yaitu keracunan yang disebabkan oleh pestisida golongan organoklorin sifat kronik mengarah pada gejala saraf yang ekstrim yang berlebihan, tidak ada hambatan enzim *acetyl cholin esterase* (ACT), (Badan Litbang Pertanian, 2016).

Theobromine merupakan senyawa alkaloid utama dari tanaman kakao/coklat yang bersifat toksik pada hewan tertentu dengan dosis tertentu. Dalam jumlah kecil, theobromine tidak menimbulkan efek keracunan pada hewan maupun manusia. (Komisi Pestisida, 2017)

Organofosfat adalah zat kimia sintetis dari molekul organik dengan penambahan fosfat. Organofosfat dapat menimbulkan keracunan karena menghambat enzim asetilkolinesterase yang menghidrolisis asetilkolin menjadi asetat dan kolin. Asetilkolin berperan penting pada sistem aktivitas saraf otonom dan neurotransmitter yang langsung berpengaruh terhadap kerja jantung, berbagai kelenjar, dan otot polos saluran napas.

Keracunan organofosfat dapat terjadi melalui kulit, mata, hidung, mulut (tertelan), juga hidung (napas) (Komisi Pestisida, 2017)

Secara kimia senyawa Organoklorin tergolong *insektisida* yang toksisitas relatif rendah akan tetapi mampu bertahan lama dalam lingkungan. Racun ini bersifat mengganggu susunan syaraf dan larut dalam lemak (Pertanian Sehat Indonesia, 2012)

Arsenik yang merupakan salah satu unsur kimia logam berat terbagi dalam dua jenis, yaitu arsenik organik dan anorganik. Arsenik organik tersusun dari kombinasi kimia arsenik dengan senyawa organik, dan tidak berbahaya bagi manusia jika dalam jumlah kecil. Biasanya digunakan dalam pembuatan insektisida (obat pembunuh serangga), herbisida (obat pemberantas tumbuhan pengganggu atau gulma), dan berbagai senyawa lain. Arsenik digunakan sebagai aditif pakan pada unggas dan produksi babi, khususnya di AS, digunakan untuk meningkatkan berat badan, meningkatkan efisiensi pakan, dan mencegah penyakit (Tim Bestekin, 2018)

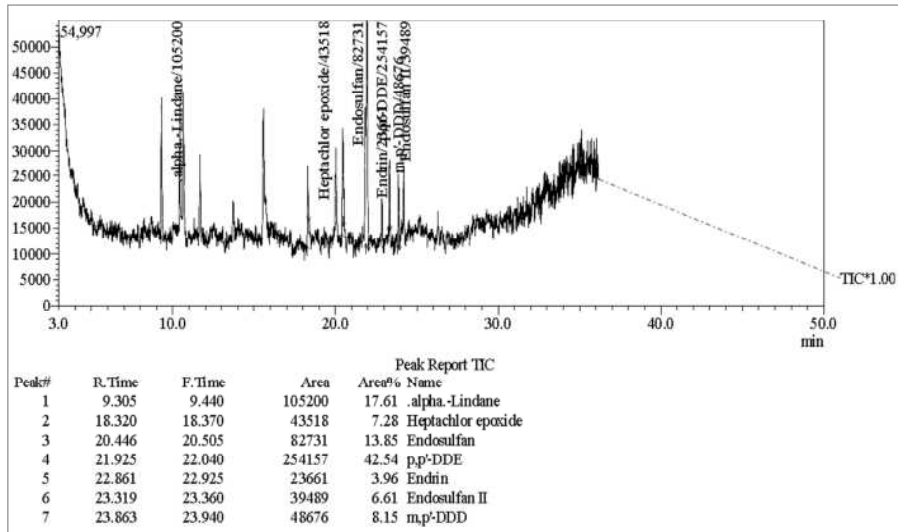
Azole merupakan senyawa sintetis yang mengandung unsur nitrogen yang digunakan sebagai fungisida. Pada umumnya golongan azole bekerja mengganggu biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama untuk mempertahankan integritas membran sel jamur.



Gambar 2. Sapi mati yang dicurigai keracunan

Pada saat investigasi kasus keracunan, contoh yang bisa diambil antara lain sisa pakan/minum, leleran hidung/mulut, organ/jaringan, atau isi rumen, atau contoh lain yang kemungkinan berhubungan. Setelah sampai di laboratorium,

dilakukan analisa terhadap contoh dengan metode QuEChERS dilanjutkan pembacaan hasil dengan alat GCMS. (Gambar 2) .



Gambar 2. Penampakan *peak chromatogram* analisa pestisida metode QuEChERS dengan alat GCMS

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Dari 105 contoh yang diuji didapatkan hasil 8 contoh terdeteksi pestisida golongan organoklorin, 6 contoh organofosfat, 4 contoh senyawa arsenic, dan 5 contoh terdeteksi senyawa theobromine (alkaloid dari tanaman cacao/coklat).
2. Kombinasi metode QuEChERS dengan alat GCMS efektif untuk mendeteksi keracunan pada ternak.
3. Perlu dilakukan monitoring kadar pestisida pada pakan ternak khususnya yang bersumber dari sisa hasil pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Štajnbaher, D., and Schenck, F.J., 2003. *Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/partitioning and Dispersive Solid-phase Extraction for The Determination of Pesticide Residue in Produce*. J. AOAC Int: 86, 412-31

AOAC Official Method. 2007. *Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate*. J. AOAC Int: 10.1.04

EN 15662. *Foods of Plant Origin-Determination of Pesticide Residues Using GCMS and/or LCMS Following Acetonitrile/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method.*

Badan Litbang Pertanian. 2016. *Hindari Pakan Ternak Mengandung Residu Pestisida*, (Internet) <http://www.litbang.pertanian.go.id/info-aktual/2520/>

Pertanian Sehat Indonesia. 2012. *Pentingnya Analisis Residu pestisida*, (Internet) <https://pertaniansehat.com/read/2012/08/09/pentingnya-analisis-residu-pestisida.html/2>

Putra, MRP. 2019. *Hindari 5 Hal Penyebab Keracunan Pada Hewan Ternak*, [internet]. [Diunduh 2019 Juni 12] Tersedia pada <http://paktanidigital.com/artikel/penyebabkeracunan-pada-hewan-ternak/#.XP9TmVUzbIU>

Komisi Pestisida. 1997. *Pestisida Higiene Lingkungan*. Komisi Pestisida, Departemen Pertanian, Jakarta: Hlm. 1.

Tim Bestekin. 2018. *Unsur Kimia Arsen.*, (Internet) <https://bestekin.com/2018/11/23/unsur-kimia-arsen>

Yuningsih dan S. Yuliasuti. 2005. *Analisis cepat residu pestisida linden (insektisida organoklorin) dalam produk ternak (daging dan susu) dengan teknik ekstraksi fase padat kromatografi gas*. JITV 10(1): 79-83.