

KAJIAN LITERATUR : REKOMENDASI PENERAPAN ENTOMOTOKSIKOLOGI FORENSIK VETERINER PADA INVESTIGASI KASUS KERACUNAN TERNAK DAN SATWA LIAR TINGKAT LANJUT DI WILAYAH KERJA BALAI VETERINER LAMPUNG

Eva Yulianti, Joko Siswanto, Bayu Triwibowo, Ahyul Heni

Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung
email: evayuliantivet@gmail.com

ABSTRAK

Selama tahun 2018-2019 kasus keracunan hewan di Balai Veteriner Lampung terdokumentasi sebanyak 55 sampel kasus. Salah satu faktor *konfounding* dari pengujian toksikologi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung, yaitu kondisi sampel yang tidak ideal dan ketika penelusuran tim investigator di lapangan sampel sudah mengalami dekomposisi tingkat lanjut karena faktor waktu transportasi. Dalam ilmu toksikologi Forensik Kedokteran, penerapan entomotoksikologi menggunakan stadium perkembangan serangga pada bangkai sudah kerap dilakukan, terutama dalam skenario kasus keracunan dan overdosis obat-obatan. Tujuan dari penulisan makalah ini adalah untuk mengkaji pentingnya penerapan Entomotoksikologi forensik veteriner pada investigasi kasus keracunan ternak dan satwa liar Tingkat lanjut di Wilayah Balai Veteriner Lampung dengan metode kajian literatur. Hasil kajian beberapa jurnal dan buku bidang toksikologi forensik yang dikumpulkan merekomendasikan penerapan entomotoksikologi forensik pada berbagai jenis kasus toksikasi yang kerap ditemukan pada ternak maupun satwa liar. Metode laboratorium yang sudah digunakan dalam uji toksikologi pada beberapa jurnal berupa *Gas Chromatography (MS-GC/HPLC)* dan Imunohistokimia bisa dilakukan di Laboratorium Veteriner. Meskipun bukan tergolong penyakit menular, tetapi kasus toksikasi bisa berpotensi menjadi kejadian Epidemik di suatu wilayah dan waktu tertentu. Oleh karena itu, perlu banyak dilakukan pengkajian dan penelitian dalam upaya penguatan metode pengujian dan investigasi kasus keracunan.

Kata Kunci : Entomotoksikologi, Forensik, Veteriner, Lampung.

PEDAHULUAN

Selama tahun 2018-2019 kasus keracunan di Balai Veteriner Lampung sebanyak 55 sampel kasus dari 4 wilayah kerja. Wilayah kerja Balai Veteriner Lampung terdiri dari empat propinsi meliputi Lampung, Sumatera Selatan, Bengkulu dan Kepulauan Bangka Belitung yang memiliki jarak waktu tempuh perjalanan darat rata-rata 12-20 jam. Dengan waktu jarak tempuh ini, pengujian patologi terutama toksikologi dan histopatologi dapat mengalami berbagai macam ketidakidealan sampel dan akan berpengaruh pada hasil diagnosa. Terdapat dua faktor *konfounding* yang umumnya ditemukan dari pengujian toksikologi di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung. Pertama faktor sifat mudah menguap zat racun yang sebagian besar merupakan senyawa gas dalam proses transportasi sampel termasuk total dari waktu koordinasi, investigasi dan pengiriman sampel, serta faktor kondisi sampel sendiri yang sudah mengalami dekomposisi tingkat lanjut (autolisis).

Dalam ilmu Toksikologi Forensik Kedokteran, penerapan entomotoksikologi menggunakan stadium perkembangan serangga pada bangkai sudah kerap dilakukan, terutama dalam skenario kasus keracunan dan overdosis obat-obatan.

Menurut Gosselin *et al.*, (2011), Entomotoksikologi forensik mempelajari kegunaan serangga sebagai alternatif sampel toksikologis. Penggunaan serangga ini sangat penting ketika sampel untuk deteksi racun konvensional seperti darah, urin atau organ internal tidak lagi tersedia. Magni *et al.* (2015) juga menjelaskan bahwa entomotoksikologi merupakan penerapan metode toksikologis dan prosedur analitik pada serangga necrophagous yang memakan jaringan pengurai untuk mendeteksi obat-obatan dan komponen kimia lainnya, dan mekanismenya mempengaruhi perkembangan dan morfologi serangga.

Dengan melihat faktor konfounding dan mekanisme penerapan entomotoksikologi pada kedokteran forensik manusia, terdapat benang merah diantaranya yang dapat diaplikasikan pada dunia kedokteran hewan atau Veteriner. Pada prinsipnya, farmakokinetik toksikasi dalam tubuh manusia dan hewan itu sama yang meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme dan eliminasi. Begitu pula proses tanatologi atau dekomposisi lanjut setelah proses kematian hewan termasuk hadirnya serangga pada bangkai hewan. Dengan demikian, istilah entomotoksikologi forensik veteriner dapat diterapkan pada kasus keracunan hewan tingkat lanjut dan pengaplikasiannya ini yang kemudian penulis coba kaji dalam kajian jurnal ini.

TUJUAN

Tujuan dari penulisan makalah ini adalah untuk mengkaji pentingnya penerapan entomotoksikologi forensik veteriner pada investigasi kasus keracunan ternak dan satwa liar tingkat lanjut di Wilayah Balai Veteriner Lampung dengan metode kajian literatur, terutama pada langkah pengambilan sampel uji laboratorium.

MATERI METODE

Penulisan ini menggunakan beberapa variabel data yang berasal dari beberapa sumber antara lain:

- a. Laporan Kegiatan Pengujian Toksikologi Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung 2018 - 2019
- b. Teks Book dan Jurnal penelitian terkait Toksikologi, Entomologi, Entomotoksikologi, dan Entomotoksikologi Forensik terbaru.

Metode yang digunakan adalah dengan kajian jurnal atau *Literatur Review*. Kondisi kasus yang terjadi di Balai Veteriner Lampung dibandingkan dengan kajian jurnal yang dapat dipertanggungjawabkan. Hasil perbandingan ini dianalisis secara deksriptif dan dituangkan dalam bentuk rekomendasi pentingnya penerapan hasil kajian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Pengujian Kasus Toksikologi di Balai Veteriner Lampung

Balai Veteriner Lampung memiliki wilayah kerja yang terdiri dari 4 propinsi yaitu Lampung, Sumatera Selatan, Bengkulu dan Kepulauan Bangka Belitung (Gambar 1). Pada proses pengujian toksikologi, jarak sering menjadi kendala berkaitan dengan kualitas sampel. Beberapa kasus toksikasi pada ternak pun menjadi terbatas karena jenis pengujian identifikasi toksin di balai pun terbatas. Keterbatasan ini ditambah dengan kualitas sampel akibat jarak wilayah kerja yang menyebabkan waktu transportasi sampel panjang menyebabkan hasil uji sulit disimpulkan ketika dikonfirmasi dengan hasil investigasi di lapangan. Kasus terakhir pada tahun 2018 di Kabupaten Kepahyang propinsi Bengkulu 5 ekor sapi perah dalam satu kandang mengalami kematian dan paralisis tiba-tiba beberapa menit setelah pemberian pakan konsentrat. Pola keparahan gejala klinis berbanding lurus dengan jumlah pakan yang dihabiskan. Sampel isi rumen kemudian dikirim ke Lampung setelah perjalanan kurang lebih 14 jam dan hasil uji toksikologi negatif. Analisis keterbatasan ini juga dilatarbelakangi oleh sifat beberapa toksikan yang mudah menguap dan proses farmakokinetiknya sendiri didalam tubuh hewan. Pengujian histopatologi pun mengalami kendala yang sama terkait duarsi waktu ini.

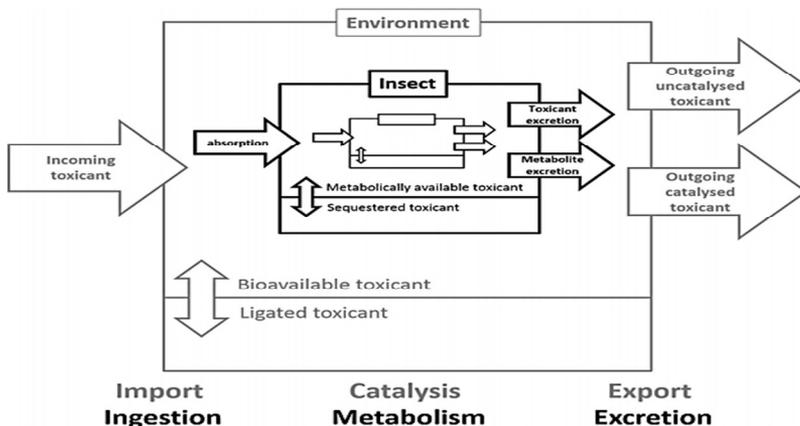


Gambar 1. Wilayah Kerja Balai Veteriner Lampung
(<https://bvetlampung.ditjenpkh.pertanian.go.id/profil/wilayah-kerja/>)

Prinsip Entomotoksikologi Forensik Veteriner

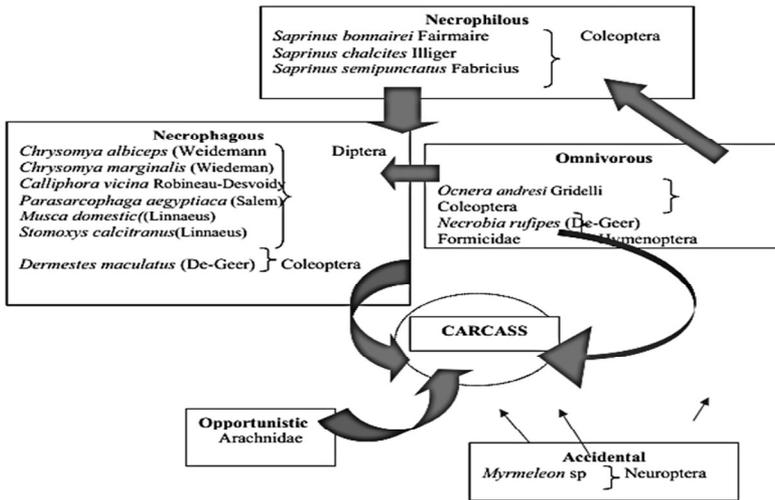
Toksikologi Veteriner adalah studi tentang racun dan pengaruhnya terhadap mekanisme fisiologis normal pada hewan. Beberapa jenis racun yang pernah dilaporkan terjadi pada hewan yaitu *Metals*, *Mycotoxins*, *Feed-related intoxicants*, *Pharmaceutical agents*, *Pesticides*, *insecticides*, *herbicides*, *Biotoxins*, *plants*, *poisonous animals (insects)*, *venomous animals (snakes, insects)* dan *bacterial toxins* (Roder, 2001). Beberapa toksin mekanisme kerjanya mengubah fungsi beberapa system tubuh dan dapat menghasilkan tanda-tanda klinis multisistemik (gambar 2). Pada toksin jenis logam mekanisme umumnya mengubah proses fisiologis normal daripada menghambat kerja suatu enzim atau biokimia. Mekanisme patofisiologis dari jenis keracunan pada berbagai jenis racun yang

sering terjadi pada hewan dijelaskan rinci Roder (2001) dalam buku *Veterinary Toxicology*.



Gambar 2. Model konseptual dari proses transportasi distribusi toksin di lingkungan, serangga dan jaringan (da Silva *et al.*, 2017)

Istilah entomologi forensik, umumnya diterapkan pada studi serangga dan artropoda lainnya yang terkait dengan kasus kriminal atau forensik tertentu. Entomologi forensik ditujukan untuk menjawab tiga pertanyaan penting yaitu interval postmortem, penyebab kematian dan lokasi kematian (Candela and Lucia, 2001). Menurut Amendt *et al.* (2004) entomologi forensik adalah penggunaan serangga dan arthropoda lain yang mendiami sisa-sisa pembusukan untuk mengungkap keadaan menarik bagi hukum dan untuk membantu dalam penyelidikan hukum. Klasifikasi fauna sarkosapofag menurut Arnaldos *et al.* (2005) terbagi menjadi lima kelompok ekologi yang berbeda; *necrophagous*, *necrophilous*, *omnivorous*, *opportunists* dan *accidentals*. *Necrophagous*, *necrophilous* dan *omnivorous* adalah yang paling penting untuk keperluan forensik. Penelitian yang dilakukan El Bar and Sawabi (2011) mengklasifikasi 5 jenis artropoda dan skema hubungannya pada bangkai kelinci yang mengalami intoksikasi organophospat pada gambar 3.



Gambar 3. Skema hubungan berbagai jenis serangga dan bangkai (El Bar and Sawabi , 2011)

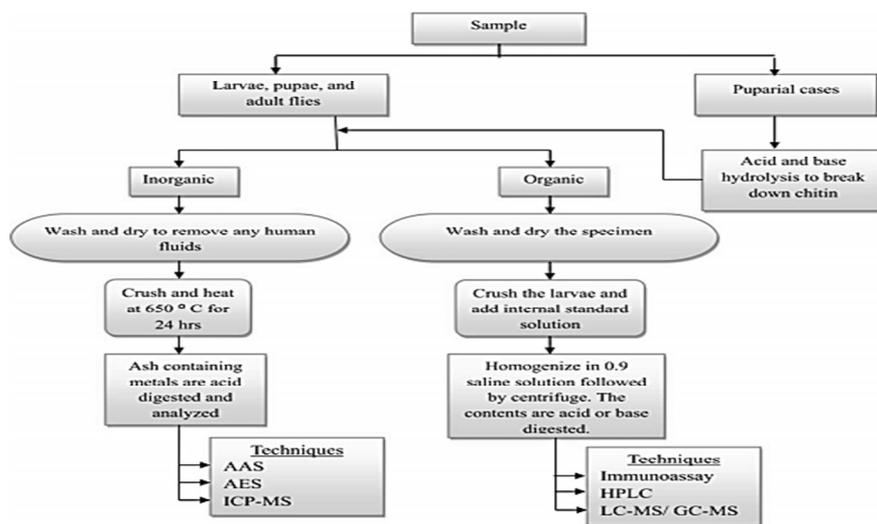
Entomotoksikologi yang didefinisikan oleh Introna *et.al* (2001) sebagai aplikasi analisis toksikologis pada serangga pemakan bangkai (*carion-feeding insects*) untuk mengidentifikasi obat dan toksin yang ada di jaringan dan efek yang disebabkan oleh zat tersebut pada perkembangan termasuk residu toksin pada serangga tersebut. Substansi toksikologis pada sisa-sisa jaringan dapat masuk ke dalam tubuh serangga (Magni *et al.*, 2016). Analisis toksikologi jika dilakukan pada jaringan yang membusuk (tahap dekomposisi lanjut atau skeletonisasi) umumnya kurang sensitif dan menghasilkan hasil diagnosa uji yang keliru, sehingga perkembangan uji dilakukan pada hipotesa adanya residu pada serangga pemakan bangkai (Kintz *et al.*, 1990). Pada tahun 2017, da Silva *et al.* dalam jurnalnya mengumpulkan setidaknya 160 penelitian mengenai entomotoksikologi dengan berbagai jenis toksikan dan jenis serangga yang ditemukan.

Kuantitas toksin pada serangga sendiri tergantung pada kondisi lingkungan. Begitu serangga memakan toksin, toksin tersebut akan mengalami tropisme (pergerakan preferensi ke jaringan tertentu) melalui proses farmakokinetik seperti penyerapan, distribusi dan ekskresi, metabolisme dan sekuestrasi, itulah sebabnya serangga dianggap sebagai sampel tidak langsung. Bahan organik yang pernah diamati dan dianalisa dari entomotoksikologi adalah larva, kepompong, serangga dewasa, kasus kepompong, exuviae (kulit kumbang), tinja kumbang (frass), predator lalat dan pemulung, *ffy predators* dan *scavengers* (Candela and Lucia, 2001). Mengenai validitas sampel, terdapat 2 pendapat para ahli. Pertama, tidak adanya korelasi antara konsentrasi toksin pada bangkai dan larva serangga. Hal ini dikarenakan faktor pergerakan serangga yang tidak bisa diprediksi dan kuantitas toksin yang sulit dipertanggungjawabkan (Tracqui *et al.*, 2004). Sementara penelitian lain menunjukkan adanya hubungan antara toksin pada

substrat bangkai dengan sampel serangga (Gosselin *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2009; Bourel *et al.*, 2001; Hedouin *et al.*, 2001). Sehingga, pengalaman kasus masih sangat dibutuhkan untuk melengkapi data kajian ini. Salah satunya dengan mulai mengaplikasikan entomotoksikologi ini pada kasus-kasus terduga keracunan atau intoksikasi pada hewan di wilayah kerja Balai Veteriner Lampung khususnya, maupun Laboratorium Veteriner lain umumnya.

Pengujian Entomotoksikologi Forensik di Laboratorium Veteriner

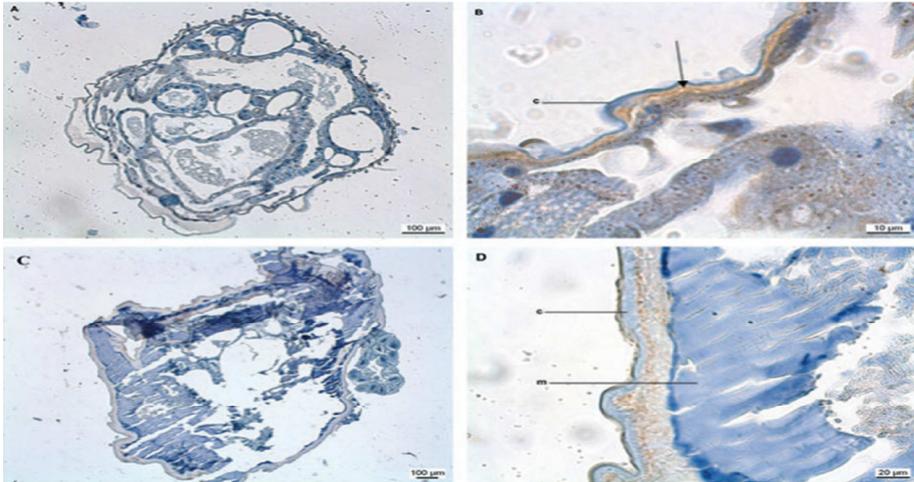
Hasil kajian jurnal yang dilakukan oleh Candela and Lucia (2001) merangkumkan bahwa untuk mendeteksi zat anorganik dalam jaringan entomologis, prosedur analitis yang dapat dilakukan antara lain *Flame atomic absorption spectroscopy* (FAAS), *Atomic Emission Spectroscopy* atau AES (kalsium), atau *Inductively Coupled Plasma* (ICP) untuk mengukur konsentrasi yang rendah. Kemudian, untuk mendeteksi zat organik dalam jaringan entomologis, prosedur analitik dalam kategori tes awal (*screening*) yaitu *radio immunoassay* (RIA) dan *fluorescence polarisation immunoassay* (FPIA), lalu sebagai tes konfirmasi digunakan teknik kromatografi misalnya *Thin Layer Chromatography* (TLC), *Gas chromatography-mass spectrometry* (GC / GC-MS) dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Prosedur pengujian entomotoksikologi dirangkum seperti pada gambar 4.



Gambar 4. Skema Pengujian Entomotoksikologi kualitatif dan kuantitatif (Chopi *et al.*, 2019)

Penelitian pun berkembang, seperti yang dilakukan oleh Souza *et al.* (2013) yang merekomendasikan standarisasi prosedur histologis untuk deteksi toksin dengan metode Imunohistokimia pada larva *Diptera* untuk kepentingan forensik. Bahkan Ishiyama *et al.* (1987) sudah menunjukkan bahwa teknik imunohistokimia adalah alternatif yang menjanjikan sebagai pendekatan deteksi toksin pada

serangga, karena lebih spesifik daripada tes tradisional, dan keuntungan besar dari metodologi ini adalah informasi mengenai pola topografi distribusi obat dalam jaringan larva, menghasilkan data farmakodinamik dan farmakokinetik. Beberapa contoh hasil pengujian imunohistokimia terkait entomotoksikologi disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Pewarnaan Imunohistokimia pada Larva *Diptera* untuk mendeteksi cocain dengan menggunakan monoclonal benzoylcegonine antibody (Souza *et al.*, 2013)

Penelitian yang dilakukan oleh Bourel *et al.* (2001) dan Parry *et al.* (2011) menunjukkan bahwa toksin pada serangga sering dideteksi pada imunohistokimia dalam konsentrasi rendah karena dapat didistribusikan dan didepositkan ke berbagai bagian tubuh larva, seperti hemolimfa, lemak, dan atau kutikula, sisanya dimasukkan dalam jaringan larva melalui berbagai tahap perkembangannya. Dengan adanya perkembangan imunohistokimia dalam bidang toksikologi, bisa menjadi pertimbangan untuk tahap *screening test* yang berguna tidak hanya pada kasus sampel serangga seperti yang penulis kaji, tetapi juga sebagai pengujian pada sampel jaringan hewan terduga keracunan yang masih ideal (belum mengalami autolisis).

Pengujian imunohistokimia sudah dikembangkan di laboratorium Balai Besar maupun Balai Veteriner (BBVet) di Indonesia yang diampu oleh Laboratorium Patologi. Kerjasama dengan universitas maupun asosiasi patologi veteriner indonesia juga membuka peluang untuk pengembangan metode ini. Tahap konfirmasi selanjutnya dapat dilakukan dengan pengujian GC/MS dan HPLC yang juga hampir sebagian besar dimiliki dan sudah digunakan pada beberapa laboratorium Veteriner di Indonesia., seperti BBVet, Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH), dan Balai Besar Penelitian Veteriner (BBLitVet). Artinya ketika fasilitas pengujian tidak memadai atau belum tersedia,

ada banyak alternatif laboratorium rujukan untuk melacak toksin dengan akurat. Hal ini sesuai dengan tujuan investigasi sendiri yaitu mengidentifikasi sumber kasus secara cepat dan akurat untuk melakukan tindakan penanggulangan, eliminasi dan juga pencegahan kasus secara tepat, bahkan pada kondisi khusus ketika sampel itu mengalami dekomposisi tingkat lanjut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Entomotoksikologi forensik veteriner diaplikasikan dengan menggunakan spesimen serangga sebagai sampel tidak langsung dari bukti toksikologis pada kasus dekomposisi lanjut sehingga tidak ada sampel matriks langsung, seperti darah, urin, isi lambung, jaringan dan lain-lain yang dapat dikumpulkan dari bangkai hewan terduga keracunan pada saat tim balai veteriner melakukan investigasi di lapangan.
2. Beberapa jenis toksikan dan mekanisme farmakokinetik toksin pada tubuh manusia dan hewan adalah sama, sehingga prinsip entomotoksikologi veteriner pada manusia dapat menjadi ilmu komparatif pada veteriner
3. Pengujian dan Analisa toksin pada sampel entomotoksikologi dapat dilakukan dengan GC/MS, HPLC dan Imunohistokimia (IHK) yang sudah dimiliki oleh beberapa Balai Pengujian Veteriner di Indonesia secara umum dan Balai Veteriner Lampung secara khusus dalam kajian literatur ini.

Saran

Kasus keracunan atau toksikasi ternak sangat banyak jenisnya. Oleh karena itu, masih perlu banyak kajian dan penelitian terkait pengembangan metode pengujian berbagai jenis toksin untuk menunjang fungsi balai veteriner dalam menjamin kesehatan hewan melalui pengujian yang akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amendt J, R. Krettek, R. Zehner. 2004. *Forensic entomology*, Naturwissenschaften 91 (2004) 51–65.
- M.I. Arnaldos, M.D. Garcí'a, E. Romera, J.J. Presa, A. Luna. 2005. *Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence*. Forensic Sci. Int. 149 (2005) 57–65
- Bourel B, Fleurisse L, Hedouin V, Cailliez JC, Creusy C, Gosset D. 2001. *Immunohistochemical contribution to the study of morphine metabolism in Calliphoridae larvae and implications in forensic entomotoxicology*. J Forensic Sci 2001;46:596–9
- Candela, Roberto G and Lucia Aventaggiato. 2001. *The detection of Toxic Substances in Entomological Specimens*. Int J Legal Med (2001) 114 :197–203. DOI: 10.1007/s004140000181

- Chophi R, Spriha Sharma, Sahil Sharma, Rajinder Singh. 2019. *Forensic entomotoxicology: Current concepts, trends and challenges*. Journal of Forensic and Legal Medicine 67 (2019) 28–36
- Gosselin M, Fernandez MDMR, Wille SMR, Samyn N, Boeck GD, Bourel B. 2001. *Quantification of methadone and its metabolite in third instar larvae of *Lucilia sericata* (Diptera : calliphoridae) using liquid chromatography – tandem mass spectrometry*. J Anal Toxicol. 2010;34:1–7
- Introna F, Campobasso CP, Goff ML. Entomotoxicology. Forensic Sci. Int.. 2001;120:42–47
- Hédouin V, Bourel B, Bécart A. 2001. *Determination of drug levels in larvae of *Protophormia terraenovae* and *Calliphora vicina* (Diptera: calliphoridae) reared on rabbit carcasses containing morphine*. J Forensic Sci. 2001;46(1):12–14
- Introna F, Campobasso CP, Goff ML .2001. *Entomotoxicology*. Forensic Sci Int 120:42–47
- Ishiyama I, Mukaida M, Tanabe R, Kaiho M, Ueyama M. 19187. *Histochemical demonstration of phenobarbital by immunocytochemistry*. J Forensic Sci 1987;32:1221–34.
- Kintz P, Tracqui A, Mangin P. 1990. *Toxicology and fly larvae in putrified cadaver*. J Forensic Sci Soc. 1990;30(4):243–246.
- Liu X, Shi Y, Wang H, Zhang RJ. 2009. *Determination of malathion levels and its effect on the development of *Chrysomya megacephala* (fabricius) in south China*. Forensic Sci Int. 2009;192:14–18
- P.A. Magni, M. Pazzi, M. Vincenti, E. Alladio, M. Brandimarte, I.R. Dadour. 2016. *Development and validation of a GCndashMS method for nicotine detection in *Calliphora vomitoria* (L.) (Diptera: Calliphoridae)*. Forensic Science International (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.11.014>
- Parry S, Linton SM, Francis PS. O'Donell, Toop T. 2011. *Accumulation and excretion of morphine by *Calliphora stygia*, an Australian blow fly species of forensic importance*. J Insect Physiol 2011;57:62–73
- Roder, Joseph D. 2001. *Veterinary Toxicology*. USA: Butterworth–Heinemann ISBN 0-7506-7240-4
- da Silva, Erica IT, Brendan Wilhelmi, Martin H. Villet. 2017. *Forensic entomotoxicology revisited—towards professional standardisation of study designs*. Int J Legal Med DOI 10.1007/s00414-017-1603-9
- Souza,CM., Carolina G. P. Lima, Marcos J. Alves-Jr, Wagner W. Arrais-Silva,Selma Giorgio, Arício X. Linhares, and Patricia J. Thyssen. 2013. *Standardization of Histological Procedures for the Detection of Toxic Substances by Immunohistochemistry in Dipteran Larvae of Forensic Importance*. J Forensic Sci, July 2013, Vol. 58, No. 4
- Tracqui A, Keyser-Tracqui C, Kintz P, Ludes B. 2004. *Entomotoxicology for the forensic toxicologist: much ado about nothing?* Int J Leg Med. 2004;118(4):194–196.