

Analisis Residu Hormon Dietilstilbestrol dalam Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) dari Pasar Tradisional Cihaurgeulis Bandung dengan Metode Lc-MS/Ms

¹Djati Wulan Kusumo, ²Arlina Prima Putri, ³Anggi Arumsari
^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116
e-mail: ¹djatiwulank@gmail.com, ²arlinaprimaputri@gmail.com,
³anggiarumsari@yahoo.com

Abstrak. Metode penetapan residu hormon dietilstilbestrol telah dikembangkan oleh BBPBAT Sukabumi sebagai laboratorium acuan di Indonesia untuk analisis residu untuk keperluan ekspor ikan nila. LC-MS/MS digunakan untuk kuantisasi dan konfirmasi terhadap residu hormon dietilstilbestrol pada ikan nila. Sampel didapatkan dari pedagang ikan di pasar tradisional Cihaurgeulis Bandung yang berjumlah 4 pedagang. Sampel ikan nila diambil hanya bagian daging saja. Daging ikan nila dihomogenkan dengan cara diblender. Sampel ikan nila yang telah homogen diekstraksi menggunakan campuran asam asetat 1% dalam asetonitril ditambahkan natrium asetat. Mode Multiple Reaction Monitoring digunakan dengan memilih dua transisi ion untuk setiap residu. Metode ini divalidasi akhir berdasarkan acuan dari BBPBAT Sukabumi. Linearitas senyawa residu memiliki nilai R^2 0,935 tidak sesuai hasil validasi oleh balai yaitu $R^2 > 0,995$. Koefisien variasi analisis residu hormon dietilstilbestrol diluar nilai 20% yaitu 52,2 %. Persen perolehan kembali dari residu hormon dietilstilbestrol diluar rentang 70-110%. Residu hormon pada seluruh sampel tidak mencapai batas deteksi yang ditetapkan oleh balai 0,2 ppb.

Kata Kunci: Kloramfenikol, Metiltestosteron, Dietilstilbestrol, LC-MS/MS, Residu Ikan Nila

A. Pendahuluan

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan ekonomis di dunia (Biswas *et al.*, 2005). Ikan ini memiliki keunggulan mudah berkembang biak, pertumbuhan cepat, toleran terhadap kondisi lingkungan, berdaging tebal, disukai masyarakat, mudah dibudidayakan (Bombata dan Somatun, 2008). Karena mudah berkembang biak, maka dapat terjadipemijahan yang tidak terkontrol dan menyebabkan pertumbuhan menjadi lambat. Menurut Phelps dan Popma, 2000 laju pertumbuhan ikan nila jantan lebih cepat dibandingkan dengan ikan betina. Selisih biomasa ikan pada waktu panen yang disebabkan oleh fenomena tersebut dapat mencapai 30-50% (Mair *et al.*, 1995). Sehingga dibutuhkan hormon tertentu yang mampu membuat ikan nila dapat tumbuh cepat dengan ukuran yang besar. Dampak yang dihasilkan akibat mengkonsumsi daging ikan yang terdapat residu hormon adalah penyakit kanker leher rahim pada konsumen akibat seringnya konsumen mengkonsumsi daging yang tercemar hormon.

Departemen Kelautan dan Perikanan (2008), menyatakan larangan penggunaan 21 jenis obat-obatan dalam kegiatan budidaya perikanan, salah satunya estrogen sintetik (dietilstilbestrol). Larangan tersebut dibuat karena salah satu persyaratan ikan yang akan yang diekspor harus bebas dari residu obat-obatan dan hormon.

Untuk melihat residu yang terdapat dalam daging ikan nila diperlukan alat yang memiliki sensitifitas, selektifitas, dan kecepatan dalam pengujian residu dibandingkan pengujian menggunakan HPLC biasa. Hal ini dikarenakan LC-MS/MS menggunakan kolom yang lebih pendek dan detektor yang memungkinkan memilah bahan aktif berdasarkan bobot molekulnya sehingga dapat melihat residu hormon lebih cepat dan lebih banyak dari pada biasanya.

B. Landasan Teori

Residu hormon merupakan senyawa asal dan atau metabolitnya yang terdapat dalam jaringan produk hewani dan termasuk residu hasil uraian lainnya. Keberadaan residu hormon dapat ditemukan saat hewan disembelih pada bagian otot, lemak, hati, ginjal, dan organ dalam lainnya. Batas maksimum residu hormon dalam produk pangan asal hewan telah diatur dalam CODEX *alimentarius commission*. Hal ini dikarenakan, adanya dugaan dampak terhadap gangguan kesehatan konsumen dari keberadaan residu tersebut dalam pangan yang apabila dikonsumsi dalam waktu lama (Famia *et al*, 2014).



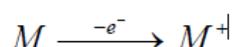
Gambar 1. dietilstilbestrol

Dietilstilbestrol (DES) adalah suatu hormon estrogen sintetis dengan rumus molekul $C_{18}H_{20}O_2$ dan bobot molekul 266,94. Pada tahun 1950-an hingga 1960-an DES diberikan kepada wanita yang dianggap beresiko keguguran. Wanita yang ibunya pernah menggunakan DES ketika mengandungnya memiliki resiko tinggi untuk mengalami resiko kelainan dalam organ tubuhnya (Ana, 2006).

Dietilstilbestrol digunakan sebagai zat pemacu pertumbuhan dan yang ditanamkan subkutan pada bagian hewan yang biasanya tidak dimakan, misalnya telinga. Tingkat residunya dalam daging cukup rendah sehingga praktis tidak akan menghasilkan efek toksik umum kecuali karsinogenisitas. Suatu karsinogen dapat efektif pada dosis yang sangat rendah. DES tidak lagi digunakan sebagai zat pemacu pertumbuhan karena adanya penemuan bahwa tumor organ genital dapat muncul pada keturunan seorang ibu yang selama kehamilannya mendapat DES dalam dosis besar untuk tujuan medis (Ratnani, 2009).

Kromatografi cair merupakan teknik pemisahan di bidang sains dan terkait dengan kimia. Kromatografi cair dapat dengan aman memisahkan senyawa organik dengan rentang yang sangat luas yaitu mulai dari metabolit obat dengan molekul kecil sampai peptida dan protein (Alfian, 2012).

Spektroskopi massa adalah suatu teknik analisis yang mendasarkan pemisahan bekas ion-ion yang sesuai dengan perbandingan massa dengan muatan dan pengukuran intensitas dari berkas ion-ion tersebut. Dalam spektroskopi massa, molekul-molekul senyawa organik ditembak dengan berkas elektron dan diubah menjadi ion-ion positif yang bertenaga tinggi (ion-ion molekuler atau ion-ion induk), yang dapat dipecah-pecah menjadi ion-ion yang lebih kecil (ion-ion pecahan). Lepasnya elektron dari molekul akan menghasilkan radikal kation, yang dapat dituliskan sebagai berikut (Sitorus, 2009):



Gambar 2. Pelepasan elektron dari molekul

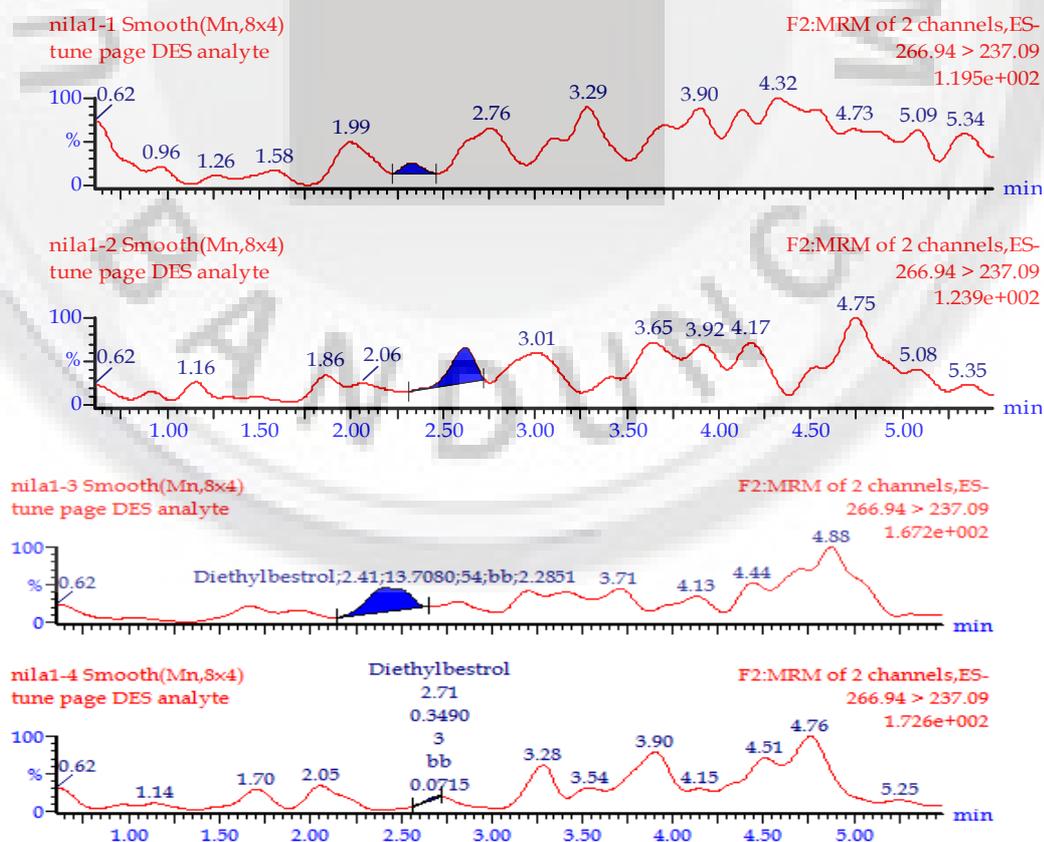
Validasi akhir atau verifikasi yang dilakukan meliputi linieritas, koefisien variasi, persen perolehan kembali, dan batas deteksi menggunakan instrumen LC-

MS/MS dengan sistem fase balik, dengan fase gerak H₂O:asetonitril (1:3). Teknik pemisahan sistem gradien pompa LC, pompa vakum kecepatan alir 0,417 mL/min, volume injeksi 3 µL, dan kolom T3 dengan temperatur kolom 25°C.

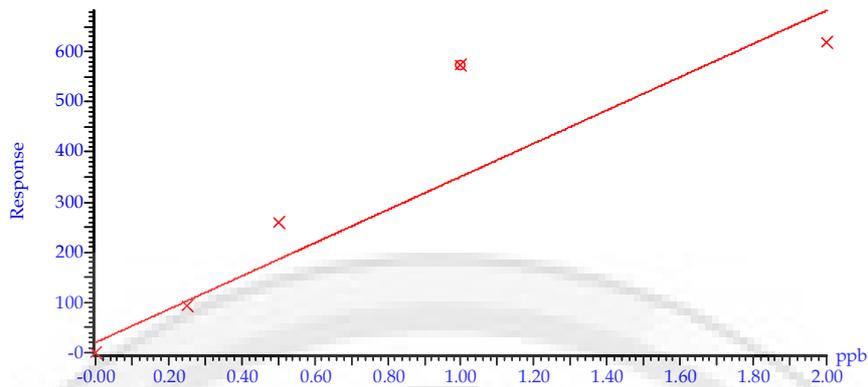
C. Hasil Penelitian

Analisis residu hormon dietilstilbestrol dari sampel daging ikan nila. Uji konfirmasi merupakan uji kualitatif dari hormon dietilstilbestrol dengan melihat *parent ion* dan *daughter ion* dapat diketahui fragmentasi ion dari senyawa. *Parent ion* dari hormon dietilstilbestrol adalah 266.94, dan *daughter ion* adalah 237.09. Tampilan kromatogram dari sampel 1 hingga sampel 4 seperti pada Gambar 3.

Dilakukan validasi akhir/ verifikasi metode meliputi linieritas, koefisien variasi, persen perolehan kembali, dan batas deteksi. Uji linearitas adalah untuk mengetahui kemampuan metode analisis memberikan respon yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas biasanya dinyatakan sebagai variasi sekitar kemiringan dari garis regresi yang diperhitungkan sesuai rumus matematika, yang didapat dari pengujian berbagai konsentrasi. Kelinearan suatu metode perlu diuji untuk membuktikan adanya hubungan linear antara konsentrasi analit dengan respon instrumen. Nilai linearitas didapat $R^2 = 0,935$ Gambar 4, sedangkan data validasi yang dilakukan oleh BBPBAT adalah 0,995. Uji akurasi dilakukan untuk menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis terhadap kadar zat sebenarnya. Akurasi merupakan ukuran ketepatan metode analisis dan biasanya dinyatakan dalam persen perolehan kembali menggunakan spike sampel dengan konsentrasi 1 ppb. Persen perolehan kembali antara 70-110%, dinilai memenuhi syarat untuk analisis kuantitatif menggunakan instrumen.



Gambar 3. Kromatogram dietilstilbestrol sampel 1 hingga 4



Gambar 4. Kurva linearitas dietilstilbestrol

Nilai perolehan kembali yang didapat dari pengujian adalah 152,2 %. Presisi didapat dari koefisien variasi yaitu 52,2%. Nilai koefisien yang baik adalah $< 20\%$. Batas deteksi adalah batas terkecil yang masih dapat dideteksi oleh alat dan menghasilkan respon yang bermakna. Nilai batas deteksi hasil validasi oleh BBPBAT adalah 0,2 ppb, sedangkan nilai batas deteksi yang didapat dari pengujian empat sampel nilainya berada dibawah batas deteksi tidak mencapai batas deteksi yang ditetapkan BBPBAT.

D. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka kesimpulan mengenai hasil pengujian residu hormon dietilstilbestrol pada keempat sampel ikan nila menunjukkan bahwa rata-rata kandungan residu berada dibawah standar yang telah ditetapkan, dimana standar yang telah ditetapkan oleh BBPBAT Sukabumi untuk hormon 0,2 ppb. Hal ini berarti ikan nila yang berada di Pasar tradisional Cihaurgeulis Bandung memenuhi standar keamanan untuk bisa dikonsumsi.

Hasil uji-uji parameter validasi yang dilakukan berupa uji akurasi, presisi, linearitas, dan batas deteksi yang didapat kurang baik karena diluar persyaratan yang ditetapkan.

Daftar Pustaka

- Alfian, N.W. 2012. Deteksi Gendarusin A dalam Urin Pria Setelah Pemberian Oral Kapsul Ekstrak Etanol Daun *Justicia gendarussa* Bur. F. Skripsi, Universitas Airlangga
- Ana, S. 2007. Menjaga Kesuburan. Depok: Prestasi. 67
- Biswas. A. K, Tetsuro.M, Goro.Y, Masasi.M, Toshio.T, 2005. *Control of Reproduction in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus L.)*. Photoperiod Manipulation. *Aquaculture* 243: 229-239
- Bombata H.A.F dan Somatun, A.O. 2008. *The Effect of Lyophilized Goat Testes Meal as First Feed on the Growth of "Wesafu"* : An Ecotype Cichlid of Epe- Lagoon, in Lagos State, Negeria. *Pakistan Journal of Nutrition* 7 (5) : 686- 688.

- Famia, Z dan Widyastuti, L. 2014. *Sekilas Resiu Hormon Anabolik Sintetik Pada Daging dan Hati Sapi yang Beredar di Indonesia*. Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Pasca Panen.
- Mair, G. C; Abucay, J. S; Beardmore, J. A dan Skibinski, D.O.F. 1995. *Growth Performance Trial of Genetically Male Tilapia (GMT) derived from YY Males in Oreochromis niloticus L; on Stationm Comparisons with Mixed Sex and Reversed male Population*. *Aquaculture* 137 : 313-322
- Phelps RP dan Thomas JP. 2000. Sex Reversal of Tilapia. Page 34-59 in B.A. Costa-Pierce and J.E. Rakocy, eds. *Tilapia Aquaculture in the Americas*, Vol 2. The Word Aquaculture Society, Baton Rounge, Louisiana, United States Vandaraj K dan Pandian T.J. 1990. Production of All Female Sterile Triploid *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture* 84 : 117-123
- Ratnani R.D. 2009. *Bahaya Bahan Tamabahan Makanan Bagi Kesehatan*. Momentum, Vol. 5, No. 1, April 2009: 16-22
- Sitorus, M. 2009. *SPEKTROSKOPI Elusidasi Struktur Molekul Organik*. GRAHA ILMU: Yogyakarta.