

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kemajuan teknologi dan era globalisasi membuat tuntutan konsumen terhadap mutu dan keamanan produk pangan semakin meningkat. Beragam produk pangan yang beredar di Indonesia menuntut adanya pengawasan untuk melindungi masyarakat dari risiko yang ditimbulkan oleh pangan yang tidak memenuhi syarat. Salah satu produk pangan yang dikenal masyarakat adalah olahan udang. Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor 21 Tahun 2016 tentang Kategori Pangan, olahan udang termasuk ke dalam kategori 09.2, yaitu ikan dan produk perikanan lainnya termasuk moluska, krustase dan ekinodermata yang telah mengalami pengolahan. Kategori tersebut meliputi produk perikanan yang telah mengalami proses pengolahan lebih lanjut seperti pembekuan, pemasakan, pengasapan, pengeringan dan pengasinan (BPOM RI, 2016).

Salah satu titik kritis keamanan pangan olahan udang adalah pada bahan baku udang segar. Dalam budidayanya, peternak dapat menambahkan obat tertentu dalam pakan. Telah diketahui bahwa penggunaan obat-obatan sebagai zat tambahan pada pakan udang dapat menimbulkan risiko kesehatan yaitu adanya residu obat. Obat yang sering digunakan pada budidaya udang adalah antibiotik yang berguna untuk mencegah penyakit pada udang sehingga mengurangi risiko turunnya hasil panen. Namun hal tersebut membawa dampak yang merugikan konsumen yaitu adanya residu antibiotik yang dapat menimbulkan resistensi pada manusia (Santos & Ramos, 2018)

Diantara antibiotik yang sering dipakai adalah golongan nitrofuran. Nitroofuran termasuk dalam kelas antibiotik spektrum luas sintetis yang semuanya mengandung cincin 5-nitrofuran yang khas. Nitrofuran umumnya digunakan sebagai aditif pakan untuk meningkatkan pertumbuhan, dan terutama digunakan untuk ternak (misalnya unggas, babi dan sapi), tambak (yaitu ikan dan udang) dan koloni lebah dalam pengobatan profilaksis dan terapeutik infeksi bakteri dan protozoa seperti enteritis gastrointestinal yang disebabkan oleh *Escherichia coli* dan *Salmonella spp.*, kolera unggas dan *coccidiosis* (Draisci *et al.*, 1997).

Pada tahun 1995, penggunaan nitrofuran untuk ternak sepenuhnya dilarang di Uni Eropa karena kekhawatiran tentang residu obat yang bersifat karsinogenik dan potensi dampak berbahaya lainnya pada kesehatan manusia (McCalla, 1983; Vroomen *et al.*, 1990; JECFA 1993). Penggunaan nitrofuran untuk ternak juga telah dilarang di negara-negara seperti Australia, AS, Filipina, Thailand dan Brasil (Khong *et al.*, 2004). Namun pada tahun 2007 Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Uni Eropa menemukan adanya kandungan metabolit nitrofuran yaitu 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ) pada udang masak beku yang diekspor dari Indonesia ke Belgia (*European Comission*, 2007), juga pada udang segar dari negara-negara Asia seperti China, Thailand dan Bangladesh yang diekspor ke berbagai negara di Eropa. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotika golongan nitrofuran masih banyak digunakan, walaupun telah dilarang. Di Indonesia, menurut Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia nomor 39/PERMEN-KP/2015 tentang Pengendalian Residu Obat Ikan, Bahan Kimia, dan Kontaminan pada Kegiatan Pembudidayaan Ikan Konsumsi, batas minimum kerja laboratorium (BMKL) metabolit nitrofuran dalam ikan dan udang adalah 1 µg/kg.

(Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2015). Oleh karena itu diperlukan adanya pengawasan terhadap produk-produk dengan komposisi utama udang.

Beberapa obat golongan nitrofuran yang umum digunakan adalah furazolidon, furaltadon, dan nitrofurantoin. Golongan ini memiliki waktu paruh pendek pada hewan dan oleh karena itu senyawa-senyawa tersebut secara umum tidak muncul sebagai residu dalam makanan yang berasal dari hewan. Ketiga senyawa nitrofuran tersebut mampu membentuk metabolit toksik, yaitu 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ) untuk furazolidon, 3-amino-5-methylmorpholino-2-oxazolidinone (AMOZ) untuk furaltadon, dan 1-aminohydantoin (AHD) untuk nitrofurantoin (Vass *et al.*, 2008).

Senyawa metabolit nitrofuran dapat terikat di jaringan dan stabil untuk waktu yang lama, sehingga berfungsi sebagai penanda untuk penggunaan nitrofuran secara ilegal pada hewan penghasil makanan. Metabolit mengikat protein secara kovalen dan bertahan selama beberapa minggu di jaringan hewan, dimana rantai samping AOZ, AMOZ, dan AHD dapat dilepaskan (Vass *et al.*, 2008).

Berdasarkan studi dengan nitrofuran yang diberi label radioaktif, metabolit dengan kadar tinggi (mg/kg) terdapat dalam jaringan setelah perlakuan terakhir. Sebagian metabolit tidak dapat diekstraksi dari jaringan dengan pelarut organik dan diasumsikan terikat protein. Tingkat residu ini berkurang secara bertahap tetapi masih dapat dideteksi setelah 45 hari dan mungkin lebih lama di otot, ginjal dan hati babi yang mendapatkan perlakuan. Penurunan residu di hati dan ginjal lebih cepat daripada di jaringan otot (Hoogenboom *et al.*, 2002).

Dalam studi toksisitas dosis berulang, AOZ menyebabkan hepatotoksitas, penurunan berat badan dan anemia pada dosis terendah yang teruji 0,9 mg/kg BB.

per hari pada tikus dan pada 1 mg/kg BB per hari pada anjing. Tidak ada informasi tentang karsinogenisitas untuk AMOZ, dan data yang tersedia tidak cukup untuk menunjukkan sifat non-genotoksik *in vitro*. Untuk AHD, satu-satunya studi mutagenisitas *in vivo* yang tersedia menunjukkan hasil negatif (*European Food Safety Authority*, 2015).

Metode yang telah digunakan untuk analisis kadar metabolit nitrofuran adalah *Enzyme Linked Immunosorbant Assay* (ELISA). Prinsip ELISA adalah analisis kuantitatif yang menunjukkan reaksi antigen-antibodi melalui perubahan warna yang diperoleh dengan menggunakan konjugat dan substrat enzim, yang berfungsi untuk mengidentifikasi keberadaan dan konsentrasi molekul dalam sampel biologis (Aydin, 2015). Beberapa sampel yang telah diuji kadar metabolit nitrofuran menggunakan metode ELISA antara lain adalah AOZ pada jaringan babi, ayam dan ikan (Chang *et al.*, 2008) dan AHD pada air minum (Liu *et al.*, 2007). Karena sifatnya yang menggunakan antibodi yang spesifik untuk analit target, metode ini tidak dapat digunakan untuk melakukan penetapan kadar beberapa analit secara simultan.

Metode kromatografi cair kinerja tinggi dengan detektor tandem spektrometri massa (LC-MS/MS) semakin banyak digunakan dan telah secara signifikan meningkatkan metode kuantitatif untuk penentuan nitrofuran dalam beberapa tahun terakhir (Verdon *et al.*, 2007). LC-MS/MS telah digunakan dalam penelitian yang menganalisis metabolit nitrofuran dalam otot unggas dan udang dengan batas deteksi sebesar 0,12; 0,13; dan 0,67 untuk AOZ, AMOZ dan AHD (Bock *et al.*, 2007); jaringan babi (Leitner *et al.*, 2001) serta pakan ikan (Hu *et al.*, 2007). Metode LC-MS/MS memiliki selektivitas dan sensitivitas yang sangat

tinggi, namun aplikasinya masih sangat mahal dan tidak semua laboratorium pengujian memiliki instrumen ini. Untuk keperluan kontrol kualitas secara rutin terhadap sampel produk pangan yang jumlahnya cukup banyak, maka diperlukan suatu metode skrining sebagai metode awal sebelum dilakukan metode LC-MS/MS. Dengan demikian LC-MS/MS lebih ditujukan untuk keperluan konfirmasi terhadap sampel yang dinyatakan positif pada hasil metode skrining.

Metode lain yang digunakan untuk penentuan kadar metabolit nitrofuran adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan detektor UV-PDA atau UV, antara lain analisis AOZ dalam hati babi (Conneely *et al.*, 2002) serta analisis AOZ dalam hati dan otot dada ayam (Prihanani *et al.*, 2017). Baru-baru ini, Fernando *et al.* (2017) menggunakan KCKT dengan detektor *photodiode array* (PDA) untuk analisis metabolit nitrofuran dalam jaringan otot udang, dan memperoleh hasil rerata rekovery untuk AOZ, AMOZ, dan AHD masing-masing adalah 107%, 107%, dan 114%. Namun sejauh ini belum tersedia metode yang sudah tervalidasi untuk penentuan kadar metabolit nitrofuran pada pangan olahan yang berbahan dasar udang. Identifikasi dan penetapan kadar metabolit nitrofuran meliputi tahap skrining dan konfirmasi. Metode skrining diperlukan sebagai tahap awal, dan diharapkan menggunakan metode yang lebih sederhana, cepat serta efisien. Dalam hal ini, penggunaan KCKT dengan detektor UV/PDA lebih menguntungkan, karena jika dilakukan identifikasi dan penetapan kadar menggunakan LC-MS/MS maka akan membutuhkan biaya yang jauh lebih mahal. Instrumen KCKT dengan detektor UV/PDA juga terdapat di laboratorium pengujian pada umumnya.

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa

parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Validasi metode dilakukan terhadap metode yang bukan merupakan metode baku (*compendial method*) atau terdapat perubahan dari metode baku, misalnya berbeda bentuk sediaan ataupun matriks sampel yang dianalisis. Menurut ¹USP 42 (2019), untuk uji penetapan kadar kategori II (penetapan kadar cemaran atau degradan dalam suatu sediaan) secara kualitatif dan kuantitatif maka parameter yang harus dilaporkan adalah akurasi, presisi, spesifisitas, batas deteksi, batas kuantitasi (*quantitation limit*).

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka perlu dilakukan validasi metode analisis identifikasi dan penetapan kadar residu metabolit nitrofuram dalam pangan olahan udang secara KCKT dengan detektor UV/PDA.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, maka diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Kondisi KCKT-UV/PDA (jenis dan komposisi fase gerak, laju alir, panjang gelombang analisis) manakah yang dapat menghasilkan pemisahan metabolit nitrofuram (AOZ, AMOZ, dan AHD) dalam sampel pangan olahan udang?
2. Apakah metode analisis metabolit nitrofuram dalam pangan olahan udang secara KCKT-UV/PDA memenuhi syarat parameter validasi (selektifitas, linieritas, rentang, akurasi, presisi, batas deteksi, batas kuantitasi)?

1.3. Tujuan Penelitian

Melakukan validasi metode identifikasi dan penetapan kadar residu metabolit nitrofuran (AOZ, AMOZ, AHD) dalam pangan olahan udang secara KCKT UV/PDA.

1.4. Manfaat Penelitian

Metode identifikasi dan penetapan kadar residu metabolit nitrofuran (AOZ, AMOZ, AHD) tervalidasi yang dihasilkan dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk skrining awal cemaran metabolit nitrofuran, dalam rangka pengawasan keamanan pangan olahan udang serta sebagai referensi bagi pengembangan metode analisis residu metabolit nitrofuran dalam makanan secara lebih lanjut.