

Analisis Cepat Residu Pestisida Lindan (Insektisida Organoklorin) dalam Produk Ternak (Daging dan Susu) dengan Teknik Ekstraksi Fase Padat dan Khromatografi Gas

YUNINGSIH dan SRI YULIASTUTI

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

(Diterima dewan redaksi 3 Nopember 2004)

ABSTRACT

YUNINGSIH and S. YULIASTUTI. 2005. A rapid, solid phase extraction (SPE) technique for the extraction and gas chromatographic determination lindane pesticide residue in tissue and milk. *JITV* 10(1): 79-84.

Organochlorine pesticide contamination in feed can cause residue in animal product (tissue and milk), so its become a problem in food safety. Solid phase extraction (SPE) has been carried out for determination organochlorine pesticide residues in food animal production. The technique was rapid, not costly and produce limited amount of hazardous-waste. Samples were homogenized with acetonitrile trough cartridge C18, eluted in fluorocyl column with 2% ether-petroleum or acetonitrile for tissue and milk samples respectively. The recoveries of tissue sample by addition lindane standard solution: 0.50 and 1.00 μg are 85.10 and 103.10% respectively, while that of milk with the addition of 0.50, 1.00 and 1.50 μg are 83.80, 88.69 and 91.24% respectively. Three replicates were carried out for every sample. According of validation criteria of FAO/IAEA the recovery for analysis of pesticide residues was 70-110%. Therefore, the method is applicable.

Key Words: Pesticide, Tissue, Milk, SPE, Gas Chromatography

ABSTRAK

YUNINGSIH dan S. YULIASTUTI. 2005. Analisis cepat residu pestisida lindan (insektisida organoklorin) dalam produk ternak (daging dan susu) dengan teknik ekstraksi fase padat dan khromatografi gas. *JITV* 10(1): 79-84.

Penggunaan pestisida yang tidak beraturan pada masa tanam dan pasca panen (produk pertanian), merupakan salah satu sumber pencemaran bahan baku pakan ternak, yang dapat menyebabkan residu dalam produk ternak (daging dan susu). Kandungan residu yang melewati batas maksimum residu (BMR) merupakan masalah dalam keamanan pangan asal ternak. Upaya mengetahui sejauhmana kandungan residu pestisida dalam produk ternak, telah dicoba pengembangan metode analisis residu yang cepat dan efektif (jumlah kecil dalam pemakaian bahan kimia organik sehingga mengurangi bahaya limbahnya). Metode yang digunakan adalah teknik ekstraksi fase padat (*solid phase extraction*, SPE) dari sampel yang telah dihomogenkan dengan asetonitril melalui *cartridge* C18. Kemudian dimurnikan (*clean-up*) melalui kolom florisisil dengan elusi 2% eter-petroleum untuk sampel daging, sedangkan untuk sampel susu, elusi dengan asetonitril dan masing-masing eluate dideteksi dengan khromatografi gas dengan *electron capture detector*. Hasil uji validasi dari pengembangan metode untuk sampel daging, rata-rata *recovery* adalah 85,10 dan 103,00% dari 2 ulangan yang masing-masing ditambahkan standar pestisida lindan 0,50 dan 1,00 μg , sedangkan untuk sampel susu, rata-rata *recovery* menunjukkan 83,80; 88,69 dan 91,24% dari 3 ulangan yang masing-masing ditambahkan 0,50, 1,00 dan 1,50 μg standar pestisida lindan. Hasil ini mendekati kisaran uji validasi (70-110%) yang merupakan kriteria uji validasi residu pestisida menurut FAO/IAEA. Dengan demikian pengembangan metode residu pestisida lindan dalam daging dan susu ini cukup baik.

Kata Kunci: Pestisida, Daging, Susu, SPE, Khromatografi Gas

PENDAHULUAN

Keberhasilan pemberantasan hama penyakit tanaman telah memberikan kontribusi yang signifikan dalam meningkatkan produksi pertanian di Indonesia. Seiring dengan keberhasilan tersebut, perkembangan di bidang pestisida juga semakin pesat, hal ini terlihat dengan beragam jenis pestisida yang dipergunakan sebagai pemberantas hama untuk mencapai target yang diinginkan. Tetapi dalam mencapai target tersebut, akhir-akhir ini terjadi penyalahgunaan dalam

pemakaian pestisida terutama di bidang pertanian, sehingga sebagian produk pertanian yang dijadikan bahan baku pakan ternak terkontaminasi dan dapat menimbulkan residu dalam produk ternak (susu, daging dan telur). Walaupun sejak tahun 1973, pemerintah telah mengeluarkan peraturan tentang Pengawasan Atas Peredaran, Penyimpanan dan Penggunaan Pestisida, para petani masih banyak yang belum mengetahui macam pestisida yang dilarang atau diizinkan pemakaiannya (Peraturan Pemerintah No.7 tahun 1973).

Tingkat bahaya pestisida pada produk pertanian tergantung dari jenis pestisida yang dipergunakan karena tiap jenis pestisida mempunyai sifat yang berlainan, diantaranya yaitu mempunyai sifat yang mudah terurai pada kondisi tertentu, sehingga tidak mempunyai efek berbahaya bagi kesehatan manusia. Sebagai contoh golongan pestisida ini adalah golongan organofosfat (malation, paration, diazinon dsb). Jenis pestisida yang mempunyai sifat akumulasi, dimana dalam jangka waktu tertentu dapat menyebabkan keracunan, sebagai contoh adalah pestisida golongan organoklorin (endrin, DDT, aldrin dsb).

Petani sering kali mencampur 4 sampai 5 jenis pestisida dalam beberapa kali penyemprotan untuk mencapai target yang diinginkan, terutama pada masa tanam dan masa panen. Akibat pengulangan penyemprotan ini maka konsentrasi pestisida pada hasil pertanian akan meningkat. Pemakaian tidak beraturan ini akan mengakibatkan kontaminasi pada hasil pertanian sebagai bahan baku pakan yang dapat menyebabkan residu pada produk ternak. (KUSPARTOYO, 1991).

Kandungan residu pestisida dalam produk ternak penting untuk diketahui karena ada ketentuan nilai batas maksimum residu (BMR), yaitu batas kadar residu pestisida yang diperbolehkan menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) yang mana nilainya berlainan (berbeda-beda) tergantung jenis pestisidanya. Mengacu nilai SNI ini, maka dapat diketahui residu dalam produk ternak telah mencapai batas berbahaya atau tidak. Hal ini penting karena sebagian residu pestisida bersifat karsinogenik (MATSUMURA, 1976).

Salah satu contoh jenis pestisida yang banyak ditemukan residunya dalam bahan pakan maupun produk ternak yaitu lindan. Harga pestisida ini relatif murah, mudah diperoleh dan cukup efektif dalam melawan sejumlah jenis insekta.

Berdasarkan hasil penelitian residu pestisida dalam susu sapi perah oleh ILYAS *et al.* (1986), ditemukan adanya pestisida lindan, dieldrin, thodan dan DDT. Hal ini membuktikan bahwa pemakaian pestisida lindan masih dominan di lapang.

Kemungkinan besar residu pestisida ini bukan hanya ditemukan dalam susu saja, tetapi juga dalam produk hewani lainnya, seperti dalam daging atau macam jaringan/*tissue*. Hal ini disebabkan karena pestisida ini didistribusikan kebeberapa jaringan dan organ dalam tubuh. Diketahui juga diantara jaringan tersebut, jaringan lemak mempunyai residu pestisida yang paling tinggi dalam tubuh (MATSUMURA, 1976).

Untuk mengetahui sejauhmana kandungan residu pestisida dalam produk ternak di Indonesia, maka dalam penelitian ini dicoba pengembangan metode residu pestisida lindan dalam daging dan susu yang selanjutnya digunakan untuk mendeteksi beberapa sampel daging dan susu. Pengembangan metode residu

dalam daging dengan cara modifikasi metode menurut SCHENCK dan WAGNER (1995), sedangkan pengembangan metode residu pestisida lindan dalam susu yaitu dengan cara modifikasi metode menurut SCHENK *et al.* (1996b).

MATERI DAN METODE

Sebagai bahan pemeriksaan residu pestisida dalam penelitian ini yaitu berupa daging sapi dan susu sapi segar. Sampel susu dan daging yang dipergunakan berasal dari beberapa peternakan di daerah Jawa Timur dan sebagian sampel daging berasal pula dari beberapa pasar tradisional di daerah Jawa Barat. Pemeriksaan ini dilakukan dalam dua tahap.

Tahap 1

Pengembangan metode residu pestisida lindan dalam daging dengan cara modifikasi metode menurut SCHENCK dan WAGNER (1995), yaitu sebagai berikut: ditimbang 2,50 g sampel daging dan diekstraksi dengan cara penambahan 25 ml asetonitril dan dihomogenkan dengan mempergunakan alat homogeniser selama 0,5 menit dengan kecepatan 11.000 putaran/menit. Kemudian disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Hasil supernatan disaring dan filtrat diukur volumenya. Kemudian diambil 5 ml filtrat dan diencerkan dengan akuades sampai volume mencapai 10 ml, dan masukkan ke dalam *cartridge* C18 (Sep-Pak C18) yang sebelumnya telah dikondisikan dengan 6 ml petroleum ether, 6 ml aseton, 2 x 6 ml metanol dan 2 x 6 ml akuades (kecepatan 3 tetes/detik). Setelah masuk sampel, *cartridge* dicuci dengan 2 x 5 ml akuades dan dibiarkan selama 5 menit. Untuk tahap pemurnian, disiapkan kolom florisil yaitu berupa kolom ukuran kecil dengan menggunakan siring plastik (10 ml) yang lubangnya (ujung siring) ditutup dengan glass wool dan diisi dengan 4 g florisil yang telah diaktifkan, kemudian di atasnya diisi sodium sulfat anhidrat setinggi 2 cm. Kondisikan kolom florisil tersebut dengan 5 ml petroleum eter. *Cartridge* dihubungkan dengan kolom florisil (posisi di bawah), kemudian *cartridge* dielus dengan 2% eter-petroleum eter sebanyak 2 x 6 ml. Hasil elusi (eluas) ditampung ke dalam labu florentin (labu penguap) dan dievaporasi dengan alat *rotary-evaporator* sampai kering. Hasil evaporasi dilarutkan dengan heksan (*for trace analysis*) dan siap diinjeksikan pada alat khromatografi gas.

Untuk uji validasi metode, dilakukan uji *recovery*, yaitu dengan penambahan larutan standar pestisida lindan ke dalam sampel daging dengan 3 macam konsentrasi yaitu 0,50; 1,00 dan 2,00 µg yang masing-masing konsentrasi dilakukan pemeriksaan 3 ulangan dan juga untuk blanko (tanpa penambahan standar).

Kemudian dilanjutkan ekstraksi seperti metode residu pestisida dalam daging tersebut.

Tahap 2

Pengembangan metode residu pestisida lindan dalam susu dengan cara modifikasi metode menurut SCHENCK *et al.* (1996b), yaitu masukkan 5 ml susu ke dalam *cartridge* C18 yang sebelumnya telah dikondisikan dengan 5 ml petroleum benzene, 5 ml aseton dan 2 x 5 ml metanol dan setelah itu dibiarkan 15 menit. Tambahkan 50 µl asetonitril ke dalam *cartridge* untuk menghomogenkan susu dalam *cartridge* dan biarkan 20 menit. *Cartridge* dicuci dengan aquades sebanyak 2 ml. Siapkan kolom florisisil yaitu kolom yang isinya sama dengan yang dilakukan pada analisis residu dalam sampel daging. Kondisikan kolom florisisil dengan 10 ml petroleum benzene dan 10 ml asetonitril. *Cartridge* C18 dihubungkan dengan kolom florisisil (posisi di bawah) dan elusi dengan 2 x 10 ml asetonitril. Eluat ditampung dalam labu florentin dan evaporasi dengan alat *rotary-evaporator* sampai kering. Hasil evaporasi dilarutkan dalam heksan (*for trace analysis*) dan siap diinjeksikan pada alat kromatografi gas.

Kondisi khromatografi gas: suhu kolom: 200°C; suhu detektor: 300°C; suhu injektor: 220°C; kecepatan alir gas: 30 ml/menit; detektor: *electron capture detector*; isi kolom: campuran 1,5% OV 17, 1,95% OV 210 dan chromosorb WHP.

Untuk pemeriksaan validasi metode, dilakukan uji *recovery*, yaitu dengan penambahan larutan standar pestisida lindan ke dalam sampel susu dengan 3 macam konsentrasi yaitu 0,50; 1,00 dan 1,50 µg yang masing-masing konsentrasi dilakukan pemeriksaan 3 ulangan dan hal yang sama dilakukan pula untuk blanko (tanpa

penambahan standar), untuk selanjutnya diikuti dengan ekstraksi metode residu pestisida dalam susu sebagaimana yang diuraikan sebelumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji validasi dari modifikasi metode analisis residu pestisida lindan dalam daging dan susu, yaitu berupa uji *recovery*, dengan cara penambahan 3 macam konsentrasi standar pestisida lindan yang masing-masing konsentrasi dilakukan 2 ulangan untuk daging dan 3 ulangan untuk susu. Sementara itu, blanko 1 ulangan, hasilnya (Tabel 1 dan 2).

Hasil uji validasi dari metode residu pestisida lindan dalam daging, menunjukkan bahwa rata-rata nilai *recovery* dengan penambahan konsentrasi standar lindan 0,50 dan 1,00 µg adalah 89,10 dan 103,00%. Hal ini sesuai dengan ketentuan menurut FAO/IAEA, (1999) dengan kisaran uji validasi antara 70-110%. Pada penambahan 2,00 µg tidak bisa dipergunakan sebagai uji *recovery*, karena nilai rata-ratanya adalah 61,74% yang berada di bawah ketentuan kisaran uji validasi (70-110%). Hal ini disebabkan sifat dan ukuran C18 *cartridge* yang dipergunakan mempunyai batas daya pengikatan antara larutan standar pestisida lindan yang bersifat polar dengan C18-*cartridge* yang bersifat non polar. Begitu juga ada ketentuan bahwa ketepatan hasil nilai kisaran uji validasi tergantung pada konsentrasi larutan standar yang ditambahkan. Sebagai contoh nilai ketepatan dari *recovery* dengan penambahan larutan standar di bawah atau sama dengan 1 µg/kg mempunyai kisaran *recovery* antara 50-120%. Sementara itu, penambahan di atas konsentrasi 10 µg/kg lindan (100 µl) atau 1,0 µg, ketepatan hasil *recovery* mempunyai kisaran 70-120% (FAO/IAEA, 1999). Pada penelitian pengembangan metode ini masuk ke dalam kisaran 70-110% yang berarti layak untuk diterapkan.

Tabel 1. Hasil *recovery* analisis residu pestisida lindan dalam daging

Ulangan	Penambahan standar lindan (µg)	Hasil <i>recovery</i> (µg)	Hasil <i>recovery</i> (%)	Rata-rata <i>recovery</i> (%)
1	0,50	0,448	89,60	
2	0,50	0,443	88,60	89,10
1	1,00	1,16	116,00	
2	1,00	0,94	90,00	103,00
1	2,00	1,17	58,48	
2	2,00	1,36	65,00	61,74
Blanko	-	-	-	-

Tabel 2. Hasil *recovery* analisis residu pestisida lindan dalam susu

Ulangan	Penambahan standar lindan (μg)	Hasil <i>recovery</i> (μg)	Hasil <i>recovery</i> (%)	Rata-rata <i>recovery</i>
1	0,50	0,41	81,20	83,80
2	0,50	0,42	83,80	
3	0,50	0,43	86,40	
1	1,00	0,91	90,47	88,69
2	1,00	0,90	89,38	
3	1,00	0,86	86,22	
1	1,50	1,34	89,60	91,24
2	1,50	1,36	90,80	
3	1,50	1,39	93,33	
Blanko	-	-	-	-

Hasil uji validasi dari metode analisis residu pestisida lindan dalam susu, menunjukkan bahwa rata-rata nilai *recovery* dengan penambahan standar pestisida lindan 0,50; 1,00 dan 1,50 μg adalah 83,80; 88,69 dan 91,24%. Berdasarkan hasil uji validasi ini, terbukti bahwa nilai *recovery*-nya masuk dalam kisaran ketentuan kriteria uji validasi analisis residu pestisida yang telah disebutkan diatas. Oleh karena itu, pengembangan modifikasi kedua metode residu pestisida lindan dalam daging dan susu cukup baik.

Rata-rata pada metode residu pestisida yang tidak menggunakan *cartridge* C18 mempunyai beberapa pemborosan terutama dalam pemakaian bahan kimia organik. Metode tersebut membutuhkan pemakaian pelarut organik (heksan, aseton, asetonitril, dietil eter dll.) dalam volume cukup banyak dan mungkin hampir 10 x lipat dari menggunakan metode *cartridge* (AOAC, 1984). Dengan demikian metode *cartridge* (SPE) ini cukup efisien dalam penggunaan bahan kimia, sekaligus dapat mengurangi bahaya yang dapat ditimbulkan, baik bagi pekerja (analisis) maupun lingkungan sekitarnya.

Hal yang sama juga dalam mengerjakan preparasi ekstrak, waktu yang dibutuhkan hanya 15 menit, lebih cepat dibandingkan dengan metode tanpa *cartridge* yang memerlukan waktu kurang lebih 40 menit. Selain itu, pemakaian bahan florisisil untuk *clean-up* sampel dalam metode yang dimodifikasi hanya membutuhkan kurang lebih 4 g florisisil yang dimasukkan ke dalam siring 10 cc. Sementara itu, metode yang belum dimodifikasi membutuhkan 15 g florisisil dengan menggunakan kolom yang cukup panjang (30 cm). Modifikasi penggunaan florisisil ini juga sebagai pengganti *cartridge* seperti metode yang dilakukan menurut SCHENCK *et al.* (1996a). Modifikasi metode ini dilakukan karena bentuk *cartridge* yang isinya florisisil

(SPE *cartridge*, Sep-Pak florisisil) cukup mahal harganya. Dengan demikian dalam metode ini penggunaan mini kolom florisisil merupakan hasil dua macam modifikasi kolom, yaitu pengganti SPE *cartridge* dan penggunaan kolom panjang yang membutuhkan florisisil yang cukup banyak.

Modifikasi lain dalam metode residu pestisida ini dilakukan pula tahap ekstraksi dalam sampel susu yang pada awalnya menggunakan *powder* C18 yang cukup mahal (SCHENCK dan WAGNER, 1995). *Powder* tersebut kemudian diganti dengan menggunakan *cartridge* yang berisi C18 (Sep-Pak C18). Penggunaan *cartridge* ini akan lebih praktis dan cepat pengerjaannya, tanpa menimbang *powder* C18 pada awal ekstraksi. Penggantian *powder* C18 dengan *cartridge* C18 tidak jauh berbeda, karena prinsip dari fungsi C18 ini hanya proses pengikatan lemak (pestisida terikat dalam lemak) dari sampel susu. Kemudian pada tahap awal preparasi dielusi dengan bahan organik (asetonitril) sebagai pelarut yang fungsinya melarutkan lemak, sehingga lebih sempurna pengikatan pada C18. Pengikatan ini membutuhkan bahan organik jauh lebih sedikit yaitu hanya 50 μl asetonitril, dibandingkan dengan menggunakan *powder* C18 yang membutuhkan volume lebih banyak yaitu 2,5 ml asetonitril untuk pengikatan lemak pada *powder* C18 (SCHENCK dan WAGNER, 1995). Penambahan volume yang sedikit ini (50 μl) merupakan uji yang berulang-ulang dengan tingkat volume yang berbeda-beda sehingga memperoleh *recovery* yang baik. Modifikasi kedua metode residu pestisida dalam sampel susu dan daging ini merupakan upaya peningkatan atau perkembangan dalam teknik metode residu yang tepat dan efisien. Uji coba atas pengembangan metode residu pestisida ini sudah dilakukan pada beberapa contoh (Tabel 3 dan 4).

Tabel 3. Residu pestisida pada produk susu asal Malang, Jawa Timur

Jenis pestisida	Rataan dan kisaran residu pestisida (ppb)	
	Nongkojajar	Ngantang
Lindan	0,35 (tt-0,03)	0,24 (0,01- 1,50)
Heptachlor	tt	0,85 (0,80- 0,90)
Endosulfan	tt	0,40 (tt- 0,70)

Tt = Tidak terdeteksi

Sumber: INDRANINGSIH *et al.* (2004)

Tabel 4. Residu pestisida dalam daging, jaringan hati dan lemak sapi dari Bogor, tahun 2003

Kode sampel	Residu pestisida (ppb)					Total residu (ppb)	
	Lin	Hepta	Diaz	CPM	Endo	OC	OP
Daging (n =44)	tt- 135,5	tt	tt-754,4	tt	tt	tt-135,5	tt-754,2
Hati (n=44)	tt- 16,7	tt	tt-969,0	tt	tt-191,8	tt-191,8	tt-969,5
Lemak (n= 44)	tt-1,1	tt	tt-908,1	tt	tt	tt-1,1	tt-908,1

Lin= lindan; Hepta=heptachlor; Diaz= diazinon; CPM= chlorophyrifos methyl; Endo= endosulfan; OC= organoklorin; OP= organofosfat; tt= Tidak terdeteksi

Sumber: INDRANINGSIH *et al.* (2004)

KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan hasil penelitian dari pengembangan modifikasi metode residu pestisida lindan dalam daging dan susu, maka dapat diambil kesimpulan bahwa hasil *recovery* berada dalam kisaran kriteria uji validasi. Oleh karena itu, kedua pengembangan metode residu pestisida dalam susu dan daging tersebut cukup baik dan dapat digunakan dalam pemeriksaan residu pestisida.

Modifikasi metode dengan teknik SPE (*cartridge*) cukup efisien dan efektif dari aspek pemakaian bahan kimia, sehingga dapat mengurangi bahaya limbah bahan kimia organik dan polusi lingkungan, sedangkan dari aspek waktu analisisnya menjadi lebih cepat.

DAFTAR PUSTAKA

AOAC. 1984. Official Method of Analysis Chemist. Ed. 14. Washington DC.

FAO/ IAEA. 1999. Report of the Joint FAO/ IAEA Expert Consultation on Practical Procedures to validate Method Performance of Analysis of Pesticide and Veterinary Drug Residues, and Trace Organic Contaminants in Food. 8-11 Nov. 1999. Miskole, Hungary.

ILJAS, J., K. WIDODO, I. PRANAYA dan K. SUPARMO. 1986. Penelitian Kadar Residu Pestisida dalam Susu Sapi Perah dari Jawa Tengah. *Medika*. 12(12): 1097-1100.

INDRANINGSIH, Y. SANI, R. WIDISTUTI, E. MASBULAN and G.A. BONWICK. 2004. Minimalization of pesticide residues in animal products. Pros. Seminar Nasional Parasitologi dan Toksikologi Veteriner. Balai Penelitian Veteriner dan Department for International Development, Bogor. hlm.105-126.

KUSPARTOYO. 1991. Daging Asal Ternak Bisa Tercemar Pestisida ?. *Ayam dan Telur*. 69: 33-35.

LAPORAN APBN 1998/1999. Penelitian kandungan residu antibiotika, pestisida, logam berat dan aflatoksin dalam produk peternakan. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.

MATSUMURA, F. 1976. Hazards to Man and Domestic Animals. *Toxicology of Insecticides*. Plenum Press. London. p. 470.

SCHENCK, J.F. and R. WAGNER. 1995. Screening, procedure for organoklorine and organophosphorus pesticide residues in milk using matrix solid phase dispersion (MSPD) extraction and gas chromatographic determination. *Food Add. Contam.* 12(4) 535-540.

SCHENCK, F. J., L. CALDERON and D. E. SANDARG. 1996a. Florisil solid phase extraction cartridge for cleanup of organochlorine pesticide residues in foods. *J. AOAC. Internal*. 79(6): 1454-1458.

SCHENCK, F. J. L. CALDERON and L.V. PHODORNIK. 1996b. Determination of Organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in fatty fish by tandem solid-phase extraction cleanup. *J. AOAC Internal*. 79(5): 1209-1214.