

Penelitian

Deteksi Residu Hormon Trenbolon Asetat pada Sapi Siap Potong Impor asal Australia

(Detection of Trenbolone Acetate Hormone Residues in Imported Slaughter Cattle from Australia)

Rifky Danial^{1,2*}, Hadri Latif³, Agustin Indrawati³

¹Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok, Badan Karantina Pertanian

²Program Studi Kesehatan Masyarakat Veteriner Sekolah Pascasarjana IPB

³Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB

*Penulis untuk korespondensi: rifky_danial@yahoo.com

Diterima 31 Januari 2015, Disetujui 30 April 2015

ABSTRAK

Trenbolon asetat (TBA) merupakan hormon penggerak pertumbuhan yang diimplankan ke sapi untuk meningkatkan berat badan dan mengoptimalkan konversi pakan. Penggunaan TBA dapat meninggalkan residu dalam urin dan dapat menyebabkan efek negatif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis keberadaan residu TBA dalam urin sapi siap potong impor dari Australia. Ukuran sampel dihitung dengan menggunakan rumus deteksi penyakit dan sampel dipilih secara acak. Sebanyak 60 sampel dianalisis menggunakan *enzim-linked immunosorbent assay* (ELISA). Tes menunjukkan bahwa sebanyak 100% urin sapi siap potong dari Australia mengandung residu TBA dengan konsentrasi yang bervariasi. Konsentrasi residu TBA < 2 *part per billion* (ppb) terdeteksi pada 37 sampel (61,67%), konsentrasi residu TBA 2-4 ppb terdeteksi pada 7 sampel (7%), dan konsentrasi residu TBA > 4 ppb terdeteksi pada 16 sampel (26,67%). Hasil positif menunjukkan bahwa sapi potong asal Australia mengandung residu hormon trenbolon asetat (TBA).

Kata kunci: ELISA, residu, sapi potong impor, trenbolon asetat, urin

ABSTRACT

Trenbolone acetate (TBA) is a growth hormone promoter which is implanted into cattle to increase weight gain and feed conversion efficiency. The use of TBA can leave residue in urine and may cause negative effects. The objective of this research was to analyze the presence of the TBA residue in imported slaughter cattle urine from Australia. Cattle urine samples were collected from Animal Quarantine Installation. Sample size was calculated using the formula of detect disease and selected by random sampling. A total of 60 samples of cattle urine were analyzed for level of trenbolone acetate residues by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. The test showed that positive results in all of urine samples (100%) of slaughter cattle imported from Australia with variation in TBA residues concentrations. The concentration of residual TBA < 2 ppb were detected in 37 samples (61.67%), the residual concentration of TBA 2-4 ppb were detected in 7 samples (7%), and the concentration of residual TBA > 4 ppb were detected in 16 samples (26.67%). Total of 60 urine samples contained TBA residues. The presence of TBA residues with concentration above 4 ppb was 16 samples (26.7%). Positive results in the samples was indicated the Australian cattle contains trenbolone acetate (TBA) residue.

Key words: ELISA, residue, imported slaughter cattle, trenbolone acetate, urine

PENDAHULUAN

Peningkatan kesejahteraan dan kesadaran masyarakat Indonesia tentang pentingnya protein hewani ikut mendorong meningkatnya permintaan terhadap pangan hewani. Namun ketersediaan stok dalam negeri akan daging sapi dan kerbau se-

cara nasional sangat minim. Kekurangan stok daging terhadap tingkat konsumsi daging disebabkan karena tidak berimbangnya *supply* dan *demand* daging di Indonesia. Populasi ternak penghasil daging untuk konsumsi kemungkinan tidak mampu memenuhi kebutuhan daging di Indonesia. Rendahnya produktivitas dan kesehatan ternak merupakan

salah satu penyebab rendahnya populasi ternak penghasil daging, disamping tingginya pemotongan ternak produktif dan belum berkembangnya pemanfaatan ternak penghasil daging lainnya seperti kerbau, kambing, domba, dan lain-lain (Widiastuti *et al.*, 2007). Kebijakan pemerintah terutama dari Kementerian Perdagangan untuk mengimpor dan menghapus kuota impor daging sapi potong dari luar untuk memenuhi kebutuhan akan protein hewani menimbulkan berbagai masalah. Permasalahan tersebut diantaranya adalah tidak adanya jaminan bahwa produk peternakan yang masuk ke Indonesia adalah yang berkualitas terbaik.

Produk peternakan yang mengandung cemaran residu bahan kimia toksik (mikotoksin, pestisida, obat hewan, dan hormon) dapat mengganggu dan membahayakan kesehatan konsumen. Salah satu residu yang membahayakan manusia adalah hormon trenbolon asetat (TBA). Trenbolon asetat adalah hormon penggerak pertumbuhan (HGP) pada ternak sapi yang berupa steroid sintetis yang bersifat androgenik. Penggunaannya pada ternak sapi dengan cara mengimplantasi TBA secara subkutan pada daun telinga ternak selama \pm 60 hari sebelum ternak tersebut dipotong (Widiastuti *et al.*, 2001).

Hormon TBA dapat meningkatkan pertumbuhan bobot badan sebanyak 10% dan menurunkan konversi kebutuhan pakan dari 11% menjadi 9%. Hasil penelitian mengenai keberadaan residu TBA di Indonesia pada daging dan hati sapi impor yang dijual di swalayan dan distributor di DKI Jakarta menunjukkan bahwa sebagian besar sampel tersebut positif mengandung residu TBA (Widiastuti *et al.*, 2000). Menurut Widiastuti *et al.* (2001), penggunaan dan peredaran hormon tersebut masih dilarang di Indonesia. Hal lain yang mendukung pelarangan tersebut adalah tidak memadainya tingkat pendidikan dan pengetahuan serta kesadaran peternak yang menggunakan HGP untuk ditaatinya ketentuan waktu henti sebelum ternak dipotong (Akoso, 2001).

Negara-negara tertentu di Eropa yang tergabung dalam *European Economic Community* (EEC) melarang penggunaan anabolik steroid sebagai penggerak pertumbuhan dan tidak memperbolehkan ada residu hormon pada produk peternakan. Namun hormon ini digunakan di negara Amerika Serikat, Kanada, Selandia Baru, Australia, Afrika Selatan, Meksiko, dan Chile sejak tahun 1970 dalam usaha penggemukan sapi. Indonesia mengimpor sapi siap potong dari Australia sehingga diduga hormon TBA terkandung didalamnya. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian terhadap residu hormon tersebut.

Karantina memiliki peran penting dalam mengawasi dan mendeteksi adanya residu TBA pada sapi siap potong impor sehingga perlu melakukan pemeriksaan residu TBA pada urin sapi demi mencegah masuknya komoditi hewan yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Hal ini menunjukkan bahwa produk ternak akan lebih aman dikonsumsi bila hasil pemeriksaan residu dalam urin sudah tidak terdeteksi. Pengamatan residu pada urin ini lebih mudah dilaksanakan dan tidak perlu membunuh hewan (Lange *et al.*, 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan residu TBA pada urin sapi siap potong yang diimpor dari Australia. Manfaat yang diharapkan yaitu dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam penyusunan kebijakan peraturan serta tindakan karantina sapi siap potong impor dari Australia di tempat pemasukan resmi yang telah ditetapkan oleh pemerintah.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Sampel penelitian berupa urin sapi siap potong yang diimpor dari Australia melalui Pelabuhan Tanjung Priok. Pengambilan sampel dilakukan di Instalasi Karantina Hewan (IKH) Tanjung Priok. Periode pengambilan sampel dilakukan dari bulan Juli sampai November 2014 dengan lingkup kegiatan yaitu perhitungan besaran sampel, pengambilan sampel (urin sapi) di IKH, dan pengujian sampel. Sampel disimpan dalam keadaan dingin sebelum dilakukan pengujian.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana terhadap sapi siap potong yang diimpor dari Australia pada setiap kedatangan sampai jumlah sampel terpenuhi, dengan menggunakan rumus *detect disease*. Sapi siap potong impor dari Australia pada tahun 2013 mencapai 77,941 ekor (BBKP Tanjung Priok, 2013). Prevalensi keberadaan hormon pada sapi sebesar 5% maka dengan tingkat kepercayaan keberadaan hormon sebesar 95%, berdasarkan rumus *detect disease* diatas diperoleh besaran sampel sebanyak 60 sampel. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive*, hal ini karena tidak dimungkinkan pengambilan sampel secara *by judgement* seperti yang biasa dilakukan untuk deteksi penyakit. Pemilihan cara pengambilan sampel secara *purposive* terkait tidak spesifiknya tanda klinis pada sapi sehingga tidak dapat dibedakan

antara sapi yang menggunakan hormon maupun sapi yang tidak menggunakan hormon.

Preparasi Sampel

Sebanyak 0,5 mL urin sapi dicampur dengan 3 mL sodium asetat 50 mM dan 8 μ L glukoronidase. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu kamar selama 3 jam untuk proses hidrolisa. Larutan hidrolisa tersebut dipurifikasi dengan kolom Rida C18 lalu dibilas dengan 3 ml metanol 100 mL dan 2 mL PBS 20 mM. Seluruh sampel sebanyak 3 mL dilewatkan ke dalam kolom. Kolom dibilas kembali dengan 2 mL metanol 40%. Semua cairan yang berada di dalam kolom dikeluarkan dengan menggunakan tekanan *syringe* atau dengan melewati gas N₂. Larutan dieluaskan perlahan dengan 1 mL metanol 80% dengan laju alir 15 tetes/menit. Larutan eluat ditampung dalam vial baru dan diencerkan menggunakan akuades dengan perbandingan 1:2. Sebanyak 20 μ L hasil pengenceran tersebut digunakan untuk pengujian dengan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA).

Pengujian Sampel dengan Metode ELISA

Metode ELISA dipakai untuk mengetahui jumlah kandungan residu TBA pada urin sapi siap potong yang diimpor dari Australia dengan kit ELISA produksi Ridascreen®, R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany Art. No. R2601. Setelah semua reagen disiapkan, tiap larutan standar dan sampel dipipet masing-masing sebanyak 20 μ L ke dalam tiap *well*. Larutan standar dimasukkan dalam 2 *well* untuk tiap konsentrasi yang berbeda. Enzim konjugat kemudian ditambahkan sebanyak 50 μ L ke tiap *well*, selanjutnya ditambahkan 50 μ L anti-trenbolon antibodi ke tiap *well*. *Plate* lalu digoyang agar homogen. *Plate* diinkubasikan selama 2 jam pada suhu ruang (20-25 °C). Setelah itu, cairan di dalam *well* dibuang dan dicuci dengan 250 μ L aquades. Cairan di dalam *well* dibuang dan *plate* diketukkan ke tisu agar semua cairan dapat terbuang secara sempurna. Tahap pencucian dengan *washing buffer*

dilakukan dengan hati-hati agar *well* tidak terlalu kering. Tahap pencucian ini dilakukan sebanyak 3 kali. Substrat 50 μ L dan *chromogen* 50 μ L ditambahkan ke tiap *well*, *plate* digoyangkan agar homogen. *Plate* kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (20-25 °C) di tempat gelap. *Stop solution* ditambahkan sebanyak 100 μ L ke tiap *well*, *plate* digoyangkan kembali agar homogen. Penambahan *stop solution* dilakukan dengan hati-hati, karena *reagent* mengandung asam sulfat. Pembacaan nilai absorbansi atau *optical density* (OD) dilakukan maksimal 30 menit setelah penambahan *stop solution* dengan menggunakan ELISA reader *Thermoscientific* skanit *software* 2.5.1 pada panjang gelombang 450 nm, dan hasil konsentrasi TBA dinyatakan dalam *part per trillion* (ppt), kemudian respon dari hasil ELISA reader dibaca dengan menggunakan *software* Rida®Soft Win (Art.No. Z9999).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan keberadaan residu TBA pada urin sapi siap potong yang diimpor dari Australia. Hasil uji disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

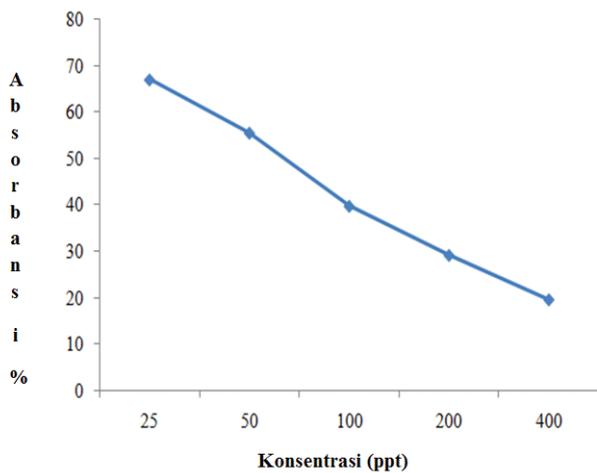
HASIL

Pemenuhan kebutuhan pangan asal hewan berupa daging sapi sampai saat ini masih bergantung pada importasi sapi dari Australia. Penggunaan TBA di Australia dianggap legal sehingga dikhawatirkan terdapat residu TBA pada sapi siap potong yang dikirim ke Indonesia dan berdampak negatif terhadap kesehatan konsumen. Hasil pengujian kandungan residu TBA pada urin sapi siap potong yang diimpor dari Australia menggunakan ELISA. Semua sampel urin menunjukkan adanya residu TBA dan terdapat 16 sampel yang mengandung residu TBA dengan konsentrasi > 4 ppb. Konsentrasi TBA pada seluruh sampel secara lengkap disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Konsentrasi TBA dalam urin sapi yang diimpor dari Australia.

Residu hormon	N	Interval konsentrasi	n positif	%	Konsentrasi (ppb)		
					Max	Min	Rataan
TBA	60	< 2 ppb	37	61,67	1,58	0,04	0,39 ± 0,06
		2-4 ppb	7	11,66	3,76	2,66	3,03 ± 0,61
		> 4 ppb	16	26,67	14,07	4,13	6,80 ± 0,84

Metode pengujian residu TBA menggunakan ELISA merupakan metode uji residu hormon yang sensitif, akurat, relatif murah, dan mudah pengerjaannya untuk pengujian rutin (Mahgoub *et al.*, 2006). Metode pengujian ini merupakan pengujian awal (*screening*) untuk mengetahui kandungan residu TBA pada sapi siap potong impor. Pada penelitian ini digunakan ELISA kompetitif yang pengujiannya berdasarkan pengikatan spesifik hormon dengan protein (spesifik antibodi) (Squires, 2003). Limit deteksi ELISA yang digunakan untuk mendeteksi residu TBA adalah 40 *part per trillion* (ppt), dengan 50% *inhibition* sebesar 82 ppt. Limit deteksi merupakan tingkat konsentrasi terendah yang dapat dideteksi dari suatu substansi. Kurva standar TBA dihitung berdasarkan *optical density* (OD) 450 nm dan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Kurva standar ELISA untuk TBA

PEMBAHASAN

Urin sapi siap potong yang diimpor dari Australia mengandung trenbolon dengan konsentrasi residu TBA yang bervariasi. Hasil positif pada pengujian ini menunjukkan masih tingginya penggunaan TBA sebagai hormon pertumbuhan di Australia. Negara pengekspor sapi potong, seperti: Australia, Kanada, USA, dan New Zealand serta lebih dari 30 negara menyetujui penggunaan 6 jenis hormon, yaitu: 3 jenis hormon steroid yang berasal dari alam (17 β -estradiol, progesteron, dan testosteron) dan 3 jenis hormon sintetik atau hormon buatan, yaitu: trenbolon asetat (sintetik androgen/testosteron), melengestrol asetat (sintetik progesteron), dan zeranol (sintetik estrogen) sebagai pemacu pertumbuhan pada sapi potong. Hormon pemacu pertumbuhan tersebut digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan, mengefisiensi konversi pakan,

dan memperbaiki karkas serta secara khusus diberikan melalui implantasi di bawah kulit telinga. Produk *implant* yang berisi TBA yang sering digunakan di Australia antara lain Finaplix-S yang berisi 140 mg TBA untuk sapi jantan muda, Finaplix-H yang berisi 200 mg TBA untuk sapi betina muda, Revalor yang berisi TBA dengan estradiol, dan Forplix yang berisi TBA dengan zeranol (Fritsche *et al.*, 2000; Schiffer *et al.*, 2001). Penggemukan sapi potong di Australia pada umumnya melakukan implantasi hormon pemacu pertumbuhan sekitar 90%. Implantasi yang tepat menghasilkan 5-15% kenaikan percepatan pertumbuhan, memperbaiki konversi pakan, pembentukan otot, dan mengurangi lemak (Fritsche *et al.*, 2000). Daging dan produk daging dari sapi potong berperan sangat penting dalam pemenuhan nutrisi manusia terutamanya protein hewani yang seharusnya aman dan tidak mengandung berbagai zat yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Hormon anabolik digunakan untuk berbagai macam tujuan dalam peternakan, namun setelah pemotongan hewan ternaknya, ada kecenderungan meninggalkan residu dalam tubuhnya dan dapat menimbulkan problema kesehatan bagi konsumen. Menurut Serratos *et al.* (2006) batasan toleransi maksimum TBA pada urin diasumsikan sebesar 4 ppb atau 2 kali lebih besar dari otot yang sebesar 2 ppb. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan kemungkinan penggunaan TBA tidak memperhatikan *withdrawal time* yaitu 60-70 hari setelah implantasi karena sebanyak 16 sampel urin (26,7%) memiliki konsentrasi TBA diatas 4 ppb yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia apabila sapi tersebut langsung dipotong dan dikonsumsi. Menurut Widiastuti *et al.* (2000) daging sapi impor yang beredar di DKI Jakarta mengandung residu hormon 17 β -trenbolon memiliki konsentrasi antara 0,25-16,122 ppb.

Menurut Standar Codex untuk obat hewan atau hormon umumnya mengacu pada persyaratan *acceptable daily intake* (ADI) dan atau *maximum residue limit* (MRL). Standar Codex menetapkan bahwa ADI trenbolon asetat adalah 0-0,02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ berat badan dan MRL trenbolon pada daging sapi dan hati sapi masing-masing 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (2 ppb) dan 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (10 ppb) (CAC, 2012). Batas maksimum residu TBA pada daging, hati maupun pada urin di Indonesia sampai saat ini belum ditetapkan dalam SNI (Standar Nasional Indonesia).

Menurut Widiastuti *et al.* (2007), residu yang terdeteksi di urin sapi percobaan yang diteliti pasca implantasi dengan TBA menunjukkan bahwa konsentrasi tertinggi ditemukan pada hari ke-3, kemudian mulai menurun pada hari ke-7 dan pada

hari ke-21 sudah tidak terdeteksi. Sementara itu, metabolitnya dalam bentuk residu 17β -trenbolon tidak terdeteksi mulai hari pertama hingga berakhirnya perlakuan. Pada hari ke-21 pasca implantasi tidak ada residu yang terdeteksi. Ada kemungkinan bahwa metabolit yang terbentuk adalah dalam bentuk lain (17α -trenbolon) sebagaimana yang diamati Bousier & Delpont (1986) dimana tingkat residu 17α -trenbolon tertinggi di urin dicapai pada 2 minggu pertama setelah implantasi dan kemudian menurun secara non linier sampai 50 hari jika diamati dengan HPTLC. Residu sudah tidak terdeteksi pada saat waktu tenggangnya telah terlampaui yaitu sekitar 63 hari bila diaplikasikan pada sapi (Longhi et al., 1994).

Pola keberadaan residu TBA di urin sapi tersebut berbeda dengan urin pada domba Garut yang menunjukkan bahwa kedua jenis residu (TBA maupun 17β -trenbolon) masih terdeteksi hingga minggu ke-4 (Widiastuti et al., 2001). Keberadaan residu trenbolon dalam urin lebih lama bila dibandingkan dalam organ maupun daging (Widiastuti et al., 2001). Residu TBA dan metabolitnya bersifat stabil. Penyimpanan TBA dalam jangka waktu lama (25 minggu) tidak mengubah konsentrasi residu TBA secara signifikan (Mac Neill et al., 2003).

Mekanisme kerja TBA hingga saat ini belum diketahui sepenuhnya, namun metabolisme dan ekskresi hormon sintetik (TBA) lebih lambat bila dibandingkan dengan hormon alam testosteron (Saicic & Spiric, 1997). Hormon sintetik dan hormon alam, serta metabolitnya dieksresikan terutama dalam kotoran ternak baik tinja maupun urin (Kolok & Sellin, 2008). Kotoran sapi potong bersifat androgenik yang sangat kuat (Durhan et al., 2006). Hormon sintetik dieksresikan dalam kotoran ternak dan dapat digunakan sebagai pupuk atau disimpan di dalam kolam-kolam penyimpanan dan selanjutnya dialirkan ke permukaan air (Soto et al., 2004; Khan et al., 2008). Menurut Lange et al. (2002), 63% sapi potong (62 juta ekor) yang diimplantasi dengan 20 mg estrogen dan 200 mg androgen/progesteron dan jika 8% penggunaan hormon diperoleh di lingkungan, maka jumlahnya 100 kg estrogen dan 1000 kg androgen/progesteron diperoleh di lingkungan melalui pembuangan kotoran sapi. Tempat-tempat peternakan diperkirakan sebagai sumber utama hormon steroid yang ditemukan dalam air tanah (Peterson et al., 2000) dan bagian permukaan air (Kolodziej et al., 2004).

Hidrolisa TBA terjadi secara cepat menjadi bentuk bebasnya (17β -trenbolon) saat terjadi implan-

tasi kemudian 80% dari metabolit tersebut akan dimetabolisme menjadi 17α -trenbolon melalui proses epimerisasi pada hati dan selanjutnya dieksresikan dalam bentuk konjugat glukoronid atau konjugat sulfat melalui urin (ginjal) dan feses (Rico, 1983). Menurut Spanger & Metzler (1991), 26 jam pasca implantasi 0,04 mg TBA/kg bobot hidup, 54 persen residu yang terdeteksi dalam bentuk 17α -trenbolon, 17β -trenbolon dan triendion. Metabolit TBA, termasuk 17α -trenbolon, 17β -trenbolon menunjukkan aktivitas androgenik *in vitro* dalam sampel pembuangan kotoran dari penggemukan sapi (Jegou et al., 2001) dan ikan yang hidup langsung dari penggemukan ternak (Jegou et al., 2001; Orlando et al., 2004). Senyawa metabolit TBA juga memiliki aktivitas anabolik yang lebih besar daripada testosteron (Khan et al., 2008).

Efek samping dari residu TBA dalam konsentrasi tinggi (diatas 4 ppb) sangat merugikan bagi kesehatan masyarakat antara lain peningkatan sel kanker, penurunan fertilitas, reaksi hipersensitif, gangguan kardiovaskuler, gangguan fungsi hati, penurunan produksi testosteron, spermatogenesis, oligospermia, serta atrofi testis (Bahrke & Yesalis, 2004; Maravelias et al., 2005). Monitoring rutin terhadap adanya residu TBA sebagai salah satu kontrol dalam keamanan pangan sangat diperlukan.

Potensi karsinogenik residu TBA ini perlu diwaspadai untuk menjamin keamanan pangan. Penjaminan keamanan pangan dari residu TBA dapat dilakukan dengan adanya pengawasan, pemeriksaan, dan pengujian dari otoritas veteriner. Residu hormon pada pangan segar asal hewan yang melampaui batas maksimal residu menjadi tidak aman dan tidak layak untuk dikonsumsi karena dapat merugikan, mengganggu, dan membahayakan kesehatan manusia. Risiko adanya residu TBA harus ditanggung oleh masyarakat di Indonesia sebagai akibat kebijakan impor pemasukan sapi siap potong impor dari Australia oleh Pemerintah. Sapi siap potong yang diimpor dari Australia tidak melalui proses perkarantinaaan namun langsung di potong untuk pemenuhan kebutuhan masyarakat sehingga berdampak terakumulasinya residu TBA dalam tubuh.

Berdasar hasil penelitian disimpulkan bahwa sapi yang diimpor mengandung TBA di dalam tubuhnya. Pemeriksaan residu hormon pada urin dapat dijadikan salah satu indikator aman tidaknya produk ternak terhadap residu hormon karena ternak tidak perlu diterminasi untuk pemeriksaannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Karantina Pertanian dan Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok yang telah memberi dana bantuan penelitian dan kepada seluruh staf Laboratorium Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso BT. 2001. Kebijakan teknis dalam penggunaan obat hewan sebagai pemacu pertumbuhan hewan pangan. Seminar Nasional ASOHI Penggunaan Pemacu Pertumbuhan pada Ternak secara Aman dan Efektif.
- Bahrke MS, Yesalis CE. 2004. Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sports and exercise. *Current Opinion in Pharmacology* 4: 614-620.
- [BBKP Tanjung Priok] Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok. 2013. Laporan E-Qvet BBKP Tanjung Priok 2012-2013. Jakarta (ID): BBKP Tanjung Priok.
- Bousier B, Delpont C. 1986. Determination of urinary 17-alpha-trenbolone acetate studies in calves use of thin layer chromatography and comparison with radioimmunoassay. *Recuile de Medecine Veterinaire* 162: 157-162.
- [CAC] Codex Alimentarius Commission. 2012. Maximum residue limits for veterinary drugs in foods. http://ftp.fao.org/codex/weblinks/MRL2_e_2012.pdf. Download: November 14, 2014.
- Durhan EJ, Lambright CS, Makynen EA, Lazorchak J, Jartig, PC, Wilson VS, Gray LE, Ankley GT. 2006. Identification of metabolites of trenbolone acetate in androgenic run off from a beef feedlot. *Environmental Health Perspectives* 114: 65-68.
- Fritsche S, Solomon MB, Paroczay EW, Rumsey TS. 2000. Effects of growth promoting implants on morphology of longissimus and semitendinosus muscle in finishing steers. *Meat Science* 56: 229-237.
- Jegou B, Soto A, Sundlof S, Stephany, Meyer H, Leffers H. 2001. Existing guidelines for the use of meat hormones and other food additives in Europe and USA. *Acta Pathology Microbiology Immunology Scandinavica* 103: 8551-8556.
- Khan B, Lee LS, Sasman SA. 2008. Degradation of synthetic androgens 17 α and 17 β -trenbolone and trendione in agricultural soils. *Environmental Science Technology* 42: 3570-3574.
- Kolodziej EP, Harter T, Sedlak DL. 2004. Dairy wastewater, aquaculture and spawning fish as sources of steroid hormones in aquatic environment. *Environmental Science Technology* 38: 6377-6384.
- Kolok AS, Sellin MK. 2008. The environmental impact of growth-promoting compound employed by the United States beef cattle industry: history, current knowledge, and future directions. *Reviews of Environmental and Contamination Toxicology* 195: 1-30.
- Lange IG, Daxenberger A, Meyer HHD. 2000. Screening of trenbolone-17 β in milk samples after application of trenbolone acetate to a cull cow. Euroresidue IV. Conference of Residues of Veterinary Drugs in Food. Veldhoven (ND):FECS 236: 713-717.
- Lange IG, Daxenberger A, Schiffer B, Witters H, Ibaretta D, Meyer HHD. 2002. Sex hormones originating from different livestock production system: fate and potential disrupting activity in the environment. *Analytica Chimica Acta* 473: 23-27.
- Longhi A, Di MB, Berra G, Lucas C. 1994. Residues of an anabolic treatment: trenbolone acetate and zeranol in steers. *Reviews of Argentina Production Animals* 14: 121-129.
- MacNeill JD, Reid J, Neiser, CD, Fesser AC. 2003. Single laboratory validation of a modified liquid chromatographic method with UV detection for determination of trenbolone acetate in bovine liver and muscle. *Journal of the Association Analytical Chemists International* 86: 916-924.
- Mahgoub O, Kadim IT, Mothershaw A, Al Zadjali SA, Annamalai K. 2006. Use of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibiotic and anabolic residues in goat and sheep meat. *World Journal of Agricultural Sciences* 2: 298-302.
- Maravelias C, Dona, A, Stefanidou M, Spiliopoulou. 2005. Adverse effect of anabolic steroids in athlete a constant threat. *Toxicology Letter* 158: 167-175.
- Orlando EF, Kolok AS, Binzcik GA, Gates JL, Horton MK, Lambright CS, Gray LE, Soto AM, Guillette LJ. 2004. Endocrine-disrupting effects of cattle feedlot effluent on an aquatic sentinel species, the fathead minnows. *Environmental Health Perspectives* 112: 353-358.

- Peterson AW, Davis RK, Orndoff HA. 2000. 17β -estradiol as an indicator of animal waste contamination in mantled karst aquifers. *Journal of Environmental Quality* 29: 826-834.
- Rico AG. 1983. Metabolism of endogenous and exogenous anabolic agents in cattle. *Journal of Animal Science* 57: 226-232.
- Saicic S, Spiric A. 1997. Trenbolone as growth promoter the advantages and consequences of its application. *Technologija Mesa* 38: 166-169.
- Schiffer B, Daxenberger A, Meyer K, Meyer HH. 2001. The fate of TBA and MGA after application as growth promoters in cattle: environmental studies. *Environmental Health Perspectives* 109: 1145-1151.
- Serratosa J, Blass B, Rigau B, Mongrell B, Rigau T, Tortades M, Tolosa E, Aquilar C, Ribo O, Belaque E. 2006. Residue from veterinary medicinal, product, growth promoter, and performance enhancer in food producing animals a European union perspect. *Reviews of Science Technology Office International des Epizooties* 25: 637-663.
- Soto AM, Calabro NV, Precht AY, Yau AY, Orlando EF, Daxenberger A, Kolok AS, Guilette Jr LJ, Le Bizet B, Lange IG, Sonnenschein, C. 2004. Androgenic and estrogenic activity in cattle feedlot effluent receiving water bodies of eastern Nebraska, USA. *Environmental Health Perspectives* 112: 346-352.
- Spanger B, Metzler M. 1991. Disposition of 17β -trenbolon in humans. *Journal of Chromatography* 564: 485-492.
- Squires EJ. 2003. *Applied Animal Endocrinology*. Cambridge (UK): CABI Pub.
- Widiastuti R, Murdiati TB, Yuningsih. 2000. Residu hormon 17β trenbolon pada daging dan hati sapi impor yang beredar di DKI Jakarta. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Balai Penelitian Veteriner. p578-581.
- Widiastuti R, Indraningsih, Murdiati TB, Firmansyah R. 2001. Residu trenbolon pada domba garut yang diimplantasi dengan trenbolon asetat. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner* 6: 198-201.
- Widiastuti R, Firmansyah R, Indraningsih. 2007. Residu trenbolon pada jaringan dan urin sapi jantan muda peranakan Ongole yang diimplantasi dengan trenbolon asetat. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner* 12: 60-67.