

LAPORAN TEKNIS 2015

23/AIR 4/OT 02 02/01/2016

DATA RISET TEKNIK PERUNUT ISOTOP UNTUK KESEHATAN DAN PANGAN

**Ermin Katrin, Agustin Sumartono, Susanto, Ali Arman, Susanto,
Aditya Dwi Permana Putra, Untung Sugiharto dan Hendig Winarno**



**PUSAT APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI
BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL
2016**

LAPORAN TEKNIS 2015

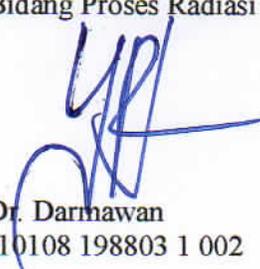
23/AIR 4/OT 02 02/01/2016

**DATA RISET TEKNIK PERUNUT ISSOTOP UNTUK
KESEHATAN DAN PANGAN**

**Ermin Katrin, Agustin Sumartono, Susanto, Ali Arman, Susanto, Aditya Dwi
Permana Putra, Untung Sugiharto, Tetra Fajarwati dan Hendig Winarno**

Mengetahui/Menyetujui

Kepala Bidang Proses Radiasi


Dr. Darmawan
NIP. 1910108 198803 1 002

Kepala Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi


Dr. Hendig Winarno, M.Sc
NIP. 19600524 198801 1 001

ABSTRAK

Pada tahun 2015 ini telah dilakukan beberapa penelitian, isotop stabil vitamin A pada anak untuk mengetahui kadar vitamin A dalam hati anak usia balita (40 responden anak balita di Puskesmas Sindang Barang), selain itu dilakukan penelitian juga **RAS 6/073** “*Using stable isotope techniques to monitor situations and intervention for promoting infant nutrition*” dan **RAS 6/080** “*Nuclear technique to assess body composition in children*”. Metode pengenceran isotop stabil deuterium oksida (D_2O) pada pemberian ASI eksklusif kepada bayi dapat memastikan bahwa program pemerintah berhasil melalui pemberian ASI eksklusif sampai usia bayi 6 bulan. Metode dengan teknik pengenceran D_2O ini juga dapat digunakan untuk menghitung komposisi tubuh anak usia 8 sampai 11 tahun. BATAN bekerja sama dengan Badan Litbang Kesehatan dan beberapa Negara di Asia di bawah koordinasi IAEA mulai tahun 2015/2016 melakukan penelitian untuk validasi pemberian **ASI eksklusif** menggunakan isotop stabil deuterium oksida dan menentukan komposisi tubuh anak dan hubungannya dengan aktivitas fisik anak. Hal ini dilakukan dalam rangka mempelajari tentang aktivitas fisik anak sekolah dasar, komposisi tubuh anak dan meningkatkan aktivitas anak sehingga dapat menurunkan obesitas pada anak secara dini. Penelitian ini sedang dilakukan dengan mengambil sedikitnya 30 sampel saliva ibu menyusui dan anak usia 3 dan 6 bulan serta sampel saliva dari 20 pasang ibu dan bayi (usia 3 dan 6 bulan) untuk analisis zat CML. Penelitian dilakukan di Cohort Tumbuh Kembang Anak, Balitbangkes, Bogor. Analisis vitamin A dilakukan dengan alat LC/MS/MS di PT AnglerBioChemLab di Surabaya. Kadar retinol dalam serum darah 40 anak berkisar antara 74,9 sampai 234 ng/mL. Deuterium oksida (D_2O) dalam saliva dari ibu dan bayi usia 3 bulan (470 sampel) sedang proses analisis di St. John Research Institute, Bangalore, India, sebagian sampel lagi akan dikirim ke India setelah sampling saliva bayi usia 6 bulan selesai pada tahun 2016. Hasil analisis saliva dari sampel pilot ada 3 pasang ibu dan bayi belum masuk kategori bayi ASI eksklusif, mereka masuk dalam kategori “predominan ASI eksklusif”. Saliva dari anak-anak SDN Pabrik Es, Bogor akan dianalisis di PAIR-BATAN, bila bantuan alat FTIR bantuan dari IAEA datang pada tahun 2016. Hasil analisis D_2O dari 3 pasang ibu dan bayi usia 3 bulan telah diperoleh, ketiga bayi termasuk kategori predominant mendapat ASI dari ibunya. Telah dilakukan pemberian D_2O kepada anak, pengambilan saliva anak, pengumpulan data antropometri, riwayat kesehatan, diet makanan, dan aktivitas fisik dari 121 orang anak-anak SDN Pabrik Es, Bogor. Selanjutnya dilakukan juga 2 penelitian lain yang didukung oleh IAEA, yaitu RAS 5062 “*Building Technological Capacity for Food Safety Control Systems Through the Use of Nuclear Analytical Techniques*”, dan RAS7/026 “*Supporting the Use of Receptor Binding Assay (RBA) to Reduce the Adverse Impacts of Harmful Algal Toxins on Seafood Safety*”. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan “*data base*” isotop stabil C-13 dan N-15 sebagai “*finger print*” dari sampel beras varietas Ciherang dengan mengambil lokasi daerah Jawa Timur. Pada kegiatan penggunaan RBA dilakukan analisis tentang plankton yang dapat menghasilkan racun Saxitoxin di Lampung dan Ciguatoxin di Pulau Pari. Saxitoxin dan Ciguatoxin mempunyai sifat racun, sehingga dapat menimbulkan kematian ikan secara besar-besaran di laut. Pemanfaatan teknik nuklir untuk pengujian saxitoxin dan ciguatoxin menggunakan teknik RBA menggunakan H-3 (saxitoxin) memiliki keunggulan dari metode konvensional (bioassay) yaitu lebih sensitif dan selektif.

Kata kunci: isotop stabil, retinyl asetat, deuterium oksida, gizi anak, komposisi tubuh, saxitoxin, green mussels (*perna viridis*), PSP toxin

PENDAHULUAN

Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 secara Nasional diperkirakan Prevalensi Balita Gizi Buruk dan Kurang (Giburkur) sebesar 19,6 %. Jumlah ini jika dibandingkan dengan hasil Riskesdas tahun 2007, terjadi peningkatan yaitu dari 18,4 %. Bila dilakukan konversi ke dalam jumlah absolutnya, maka ketika jumlah Balita tahun 2013 adalah 23.708.844, sehingga jumlah Balita Giburkur sebesar 4.646.933 balita. Apabila ditinjau menurut provinsi, terlihat ada 19 provinsi yang mempunyai proporsi lebih tinggi dari angka Nasional. Proporsi tertinggi Balita Giburkur terdapat pada provinsi Nusa Tenggara Timur (33%). Sedangkan proporsi terendah Giburkur pada provinsi Bali (13,2 %). Terdapat 7 juta balita yang mengalami anemia (28,1 %). Status gizi Balita saat ini perlu mendapat perhatian yang khusus. Selain kasus kurang gizi, masalah kegemukan pada anak juga mulai meningkat.

Pengembangan iptek di bidang teknologi kesehatan merupakan salah satu dari 7 bidang fokus yang sesuai dengan amanat RPJMN 2010-2014 dan Agenda Riset Nasional (ARN). Pemanfaatan teknik nuklir dibidang kesehatan untuk menelusur tingkat asupan vitamin A dalam tubuh anak balita akan dikembangkan di PAIR-BATAN. Dalam forum-forum internasional seperti *International Atomic Energy Agency (IAEA)*, BATAN telah berperan aktif dalam kegiatan litbang teknik nuklir untuk kesehatan. Sejalan dengan Misi BATAN yaitu mengembangkan iptek nuklir yang handal, berkelanjutan dan bermanfaat bagi masyarakat serta tugas dan fungsi BATAN yaitu “peningkatan peran iptek nuklir dalam pembangunan nasional”, maka salah satu rencana strategis (RENSTRA) BATAN 2015-2019 adalah pemanfaatan iptek nuklir untuk membantu permasalahan bangsa di bidang kesehatan melalui penyediaan basis data kandungan zat besi pada anak balita di daerah yang masih tinggi jumlah gizi kurang dan buruk.

Upaya perbaikan gizi dilakukan dengan teknik isotop stabil. Isotop stabil tidak memancarkan radiasi sehingga dapat digunakan untuk mempelajari nutrisi, salah satunya yaitu teknik penggunaan isotop stabil C10-retinyl asetat. Status vitamin A pada anak balita dapat diidentifikasi secara akurat dengan memanfaatkan teknik perunut isotop stabil. Kelebihan teknik nuklir yang digunakan tersebut diharapkan mampu berkontribusi dalam penanggulangan permasalahan gizi di Indonesia. Dengan informasi atau data tersebut, pemerintah dalam hal ini Kementerian Kesehatan dapat menetapkan kebijakan atau meluncurkan program yang tepat berkaitan dengan penanganan

malnutrisi. Untuk mencapai sasaran yang tepat maka kegiatan ini tidak hanya melibatkan institusi BATAN tetapi juga institusi lainnya misalnya Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik (PT2KEK)-Kemenkes melalui para penelitiannya, dan Pemerintah Daerah terkait.

Terkait dengan RAS 5062 “*Building Technological Capacity for Food Safety Control Systems Through the Use of Nuclear Analytical Techniques*”, dan RAS7/026 “*Supporting the Use of Receptor Binding Assay (RBA) to Reduce the Adverse Impacts of Harmful Algal Toxins on Seafood Safety*”, produksi makanan yang aman dan berkualitas tinggi antara lain beras dan hasil produk laut perlu dilakukan pengawasan untuk pemasaran di dalam negeri maupun ekspor. Ketertelusuran produk makanan melalui tahap produksi, pengolahan dan distribusi memainkan peran kunci dalam menjamin keamanan makanan. Ketertelusuran makanan terutama berfokus pada keamanan pangan dan kualitas, tetapi juga berdampak pada ketahanan pangan, kuantitas dan ketersediaan keseluruhan makanan. Finger print isotop dan unsur-unsur lain dapat membantu memberikan analisis yang akurat untuk menentukan asal makanan. Teknik nuklir yang digunakan dalam menelusuri makanan digunakan isotop antara lain C-13 dan N-15. Pembuatan “*data base*” plankton yang dapat menghasilkan racun Ciguatoxin akan dilakukan menggunakan teknik *Receptor*.

Fenomena *red tide* atau pasang merah kerap terjadi di perairan Teluk Hurun, sehingga kejadian ini merugikan pembudidaya ikan keramba. Timbulnya *red tide*, disebabkan oleh tingginya nutrisi (nitrogen atau fosfor), cahaya dan kondisi fisik perairan. Kejadian HAB di perairan Hurun Lampung terjadi pada tahun 2012, 2013 dan 2014. Kematian masal ikan telah terjadi di perairan bagian dalam Teluk Lampung, khususnya di pesisir Lampung Selatan hingga ke arah selatan ke Pesisir yang masuk bagian Kabupaten Pesawaran. Ribuan ikan, baik ikan budidaya maupun ikan di luar budidaya, dijumpai mati masal. Dari hasil investigasi yang dilakukan oleh Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung, saat pasca kematian, diduga keras kematian masal di sebabkan oleh bloom alga, khususnya dari Dinoflagelata yaitu species *Cochlodinium polykrikoides*. Menurut informasi, kejadian ini sudah dimulai secara bertahap sejak Oktober 2012, namun puncaknya adalah di Bulan Desember 2012. Selain spesies tersebut, fenomena alga bloom di perairan pesisir barat dari Teluk Lampung merupakan kejadian rutin sebagaimana telah diobservasi oleh Sidabutar (2006) yang menemukan bloom dari species *Pyrodinium bahamense* yang melimpah di

Teluk Hurun, bagian dari pesisir barat Teluk Lampung. Oleh karena itu perlu dilakukan penentuan kadar PSP Toksin, untuk mengetahui kematian ini akibat HAB atau karena penyebab pencemaran lainnya.

Pengamatan adanya bentik penghasil toxin ciguatoxin dilakukan di Pulau Pari dengan teknik *window screening*, seperti dilaporkan oleh Hikmah dkk dan Riani dkk, bahwa beberapa tempat di Pulau Pari ditemukan bentik yang dapat menghasilkan ciguatoxin.

BAHAN DAN METODE

Bahan

- a. Sampel yang diuji untuk mengetahui kadar vitamin A dalam hati anak balita yaitu serum yang diambil dari darah anak balita (40 orang anak) di Puskesmas Sindang Barang, Bogor; isotop stabil $^{13}\text{C}_{10}$ -retinyl asetat (isotop stabil vitamin A) dan standar vitamin A (retinol); tabung cryo tube untuk menyimpan serum, jarum kecil untuk mengambil darah, tabung sentrifuge, pelarut etil asetat dan etanol.
- b. Sampel saliva dari pasangan ibu-bayi usia 3 dan 6 bulan, deuterium oksida (donasi dari IAEA), botol berisi air "akua", cotton lidi, kapas, syringe, sarung tangan, tabung cryo tube.
- c. Sampel saliva dari anak-anak SD, deuterium oksida, botol berisi air "akua", kapas, syringe, sarung tangan, tabung cryo tube.
- d. Sampel yang diuji dalam penelitian ini adalah kerang hijau yang diambil di sekitar teluk Hurun, Lampung. Bahan kimia yang digunakan antara lain ^3H -Saxitoxin, Saxitoxin di HCl, MOPS, pH 7,4, choline chlorida dan Phenyl methyl sulfonyl fluorida (sigma), HCl, Bovine serum albumin (BSA), Ammonium format, HCl, NaOH.
- e. Sampel padi varietas Ciherang, Sampel Beras, blender, lumpang, vial untuk NAA, botol plastik vol 700 ml, penyaring 20 μm , *sampling rig*, larutan Lugol, *deionized water*, vakum tangan.

Peralatan

- a. Peralatan yang digunakan untuk analisis vitamin A adalah LC/MS/MS di PT AnglerBioChemLab, Surabaya.
- b. Peralatan yang digunakan untuk analisis D_2O dalam sampel saliva ibu dan anak adalah IRMS di St. Johns Research Institute, Bangalore, India.

- c. Peralatan yang digunakan untuk analisis D₂O dalam saliva anak-anak SD Pabrik Es adalah FTIR (alat yang akan diberikan oleh IAEA, belum tiba).
- d. Peralatan yang digunakan untuk RAS 5062 dan RAS7/026 antara lain peralatan gelas, timbangan, sentrifuge, mcropipettor (1-1000 µl), 8 chanel pipettor (5-200 µl), 96-well microtiter filter plate, multiscreen vacuum manifold, pompa vakum, vortex, GC-14 B (Shimadzu), Liquid scintillation counter (Backman) dan IRMS.

Metode

a. Vitamin A dengan alat LC/MS/MS :

- Preparasi serum di ruang berlampu kuning:
 1. Ke dalam 1,0 ml sampel serum ditambahkan 20 µl (50 pmol) [¹³C₁₀]-retinyl acetate (sebagai internal standar), lalu diekstraksi dengan campuran 5 ml etanol dan 5 ml etil asetat (etanol : etil asetat = 1/1).
 2. Campuran di vortex selama 1 menit.
 3. Campuran tersebut disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm suhu 4°C, selama 30 menit.
 4. Supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi kecil, lalu dikeringkan dengan gas nitrogen/argon.
 5. Residu dilarutkan dengan 100 µl etil asetat, divortex sehingga residu larut homogen.
 6. Sampel ditaruh dalam tabung kecil siap dianalisis dengan LC/MS/MS.
- Analisis dengan LC/MS/MS
 1. Analisis dengan LC menggunakan pre kolom (4 x 3 mm) kolom C₁₈ (3µm; 50 mm x 2 mm i.d.) pada suhu 30°C. Fase gerak ammonium asetat 0,1M pH 5 (A) dan 50:50 (w/w) metanol/isopropanol (B). Fase gerak menggunakan sistem gradien terdiri 80% to 99% B selama 1 menit, dipertahankan 99% B selama 3 menit, kemudian kembali menjadi 80% B selama 3 menit. Kecepatan alir 1,0 ml/menit, dan injeksi sampel dengan volume 10µl.
 2. LC dihubungkan dengan API4000 triple quadrupole LC/MS/MS (Applied Biosystems) untuk analisis menggunakan APCI (atmospheric pressure chemical ionisation).

b. Sampling saliva ibu dan bayi

Pemberian D₂O :

1. Timbang botol putih dari IAEA, lalu masukkan D₂O dengan pipet plastik, kemudian timbang D₂O sampai seberat yang dibutuhkan 10 g/ibu.
2. Simpan D₂O dalam kulkas sampai esoknya diberikan kepada ibu/responden.

Antropometri dan Pengambilan saliva :

1. Pada hari ke 0, ukur berat dan tinggi badan ibu dan bayi.
2. Kumpulkan saliva ibu dan bayi sebagai baseline.
3. Berikan ibu 10 g D₂O melalui sedotan bersih, dijaga agar semua D₂O diminum habis oleh ibu.
4. Bilas botol dengan 2 x 50 mL air mineral, minta ibu meminumnya sampai habis.
5. Catat data antropometri dan waktu pengambilan saliva pada lembar data ibu dan bayi.
6. Beri label pada tabung : kode responden, tanggal, hari sampling, dan waktu sampling saliva.
7. Jelaskan kepada ibu agar datang kembali besok (hari ke-1), hari ke-2, hari ke-3, hari ke-4, hari ke-13 dan hari ke-14 untuk diambil saliva ibu dan bayi.
8. Simpan tabung saliva yang telah diambil di Freezer -20°C.
9. Sampel tetap dalam keadaan beku dalam dry ice selama pengiriman ke India dan dilanjutkan dengan analisis D₂O menggunakan alat IRMS.

c. Analisis D₂O dalam saliva dengan alat FTIR

1. Siapkan standar dengan konsentrasi 2,5; 5; 10; 15; dan 20% untuk membuat kurva baku standar.
2. Siapkan FTIR dengan menggunakan cell ATR.
3. Lakukan pengukuran sampel standard dan catat luas area dari masing-masing konsentrasi.
4. Lakukan pengukuran blanko (blanko menggunakan air mineral).
5. Lakukan pengukuran sampel saliva sebanyak 400 µl catat luas area dan adsorban yang di dapat.
6. Setiap penggantian sampel, cell ATR harus dicuci menggunakan air mineral (blanko).
7. Jika selesai pengukuran, matikan alat FTIR.

d. Analisis saxitoksin dalam kerang dengan metode Receptor Binding Assay

1. Ekstraksi sampel untuk uji saxitoxin. Sampel kerang dihaluskan, ditimbang 5 g, ditambah 5 ml HCl 0,1 N, lalu di vortex. pH sampel ditepatkan pada pH 3-4. Larutan dipanaskan diatas pemangas air mendidih selama 5 menit, Larutan diangkat dan didinginkan dan pH ditepatkan pada pH 3-4. Filtrat diambil sekitar 5-7 ml, disentrifuge pada 3000 x g selama 10 menit. Filtrat diambil dan disimpan pada suhu -20°C sebelum diuji kadar saxitoxinnya.
2. Pengujian saxitoxin dalam sampel dengan metode Receptor Binding Assay. 96-*well* microtiter filter plate ditempatkan diatas multiscreen vacuum manifold. Ke dalam *well* yang kosong ditambah 200 µl buffer MOPS/cholin chloride untuk menguji bahwa proses filtrasi dapat terjadi dengan baik. Vakum dihidupkan sehingga setiap *well* kering dalam waktu 2-3 detik. Ke dalam *well* ditambah 35 µl standar STX, QC atau sampel. Setelah itu semua *well* ditambah 35 µl [³H] STX 15 nM dan 140 µl membran hasil ekstrak dai otak tikus. *Well* ditutup dan diinkubasi pada 4 °C selama 1 jam. Plate difiltrasi, sehingga sampel yang tidak berikatan dengan membran akan dibuang. Plate diletakkan di *multiscreen punch system*, Setiap *well* dimasukkan dalam vial dan diisi 4 ml scintillation cocktail (Insta gel plus), selanjutnya dicacah dengan alat LSC. Hasil cacahan dibuat kurva menggunakan program Prism v.4, Graph Pad Software (2).
3. Pengambilan benthik dilakukan dengan metode “window screening”, dimana benthik akan terperangkap dalam “screen”, kemudian “screen” tadi diambil dengan cara mengocok selama 5 detik lalu disaring dengan penyaring 20 µm. Sampel diambil sebanyak 15 ml dan diberi larutan Lugol 1-2 tetes dan siap dilihat dibawah mikroskop.
4. Air laut diambil dari beberapa lokasi penempatan “window screening” diukur parameter air antara lain NO₂, NO₃, Fosfat total dan ammonia total.
5. **Analisis isotop alam dalam beras dengan alat IRMS dan trace element dengan alat NAA**
 1. Penentuan isotop alam. Sampel padi dijemur di matahari, kemudian digiling dan disosoh, kemudian digiling dengan blender dan siap dikirim ke New Zealand untuk dianalisis isotop alamnya.
 2. Penentuan “trace element” dalam beras dengan metode NAA. Beras dicuci dengan *demineralized water* sebanyak 3 kali, kemudian dikeringkan dalam

oven selama 2 jam dengan suhu 60°C, kemudian dihaluskan dalam lumpang, diayak 100 mesh lalu ditimbang dalam vial dan siap ditembak dalam reaktor RSG Serpong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

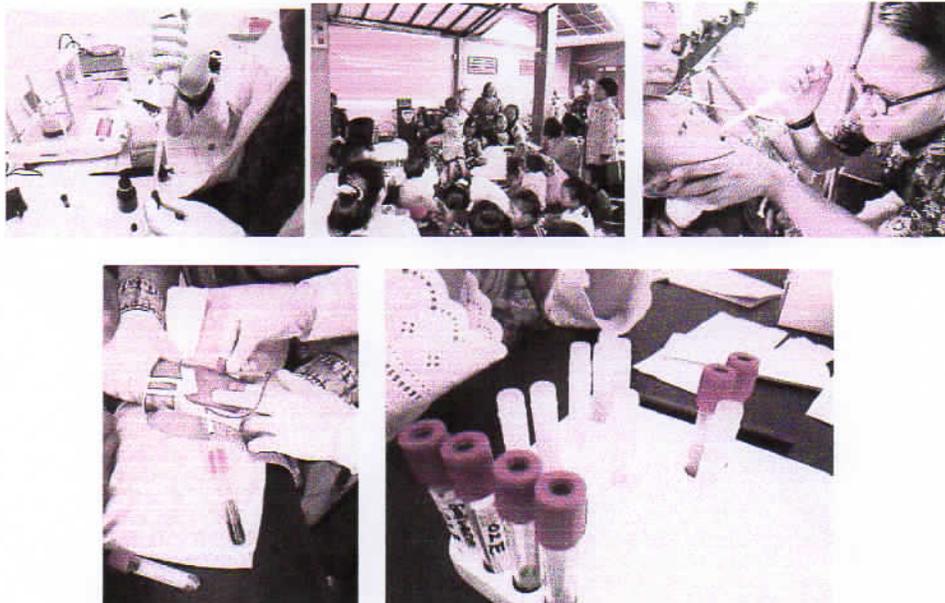
Pada pengukuran kadar vitamin A dalam serum anak balita di Puskesmas Sindang Barang, anak-anak berpuasa sejak bangun tidur sampai diberi isotop stabil vitamin A sebanyak 0,4 mg yang telah dilarutkan dalam minyak biji matahari. Anak-anak dibagi menjadi 8 kelompok (A sampai H) dengan 4 sampai 7 anak per kelompok. Setiap anak diambil darahnya 2 kali pada waktu tertentu (Tabel 1). Anak-anak kelompok A adalah anak-anak yang diambil darahnya sebelum diberi isotop stabil vitamin A dan hari ke-3 setelah diberi isotop stabil.

Tabel 1. Jadwal sampling kelompok responden anak balita di Sindang Barang

Group	ID anak	Tgl		Sampling darah		
				Sampling darah ke-I	ke-II	
A	A-1 A-2 A-3 A-4	19 Okt '15	<i>Base line</i>	19 Oct '15 7:00 Sebelum pemberian 13C vit A	Hari ke-3	22 Okt '15
B	B-1 B-2 B-3 B-4	19 Okt '15		14:00 7 hours setelah pemberian 13C- vitamin A	Hari ke-3	22 Okt '15
C	C-1 C-2 C-3 C-4	19 Okt '15		16:00 9 jam setelah pemberian 13C- Vitamin A	Hari ke-3	22 Okt '15
D	D-1 D-2 D-3 D-4	19 Okt '15		20:00 13 jam setelah pemberian 13C vitamin A	Hari ke-3	22 Okt '15
E	E-1 E-2 E-3 E-4 E-5			Hari ke-1 20 Okt '15	Hari ke-3	23 Okt '15
F	F-1 F-2 F-3	20 Okt '15		Hari ke-3 23 Okt '15	Hari ke-7	27 Okt '15

	F-4 F-5 F-6 F-7					
G	G-1 G-2 G-3 G-4 G-5 G-6 G-7	20 Okt '15		Hari ke-3 23 Okt '15	Hari ke-14	3 Nov '15
H	H-1 H-2 H-3 H-4 H-5	20 Okt '15		Hari ke-3 23 Okt '15	Hari ke-21	10 Nov '15

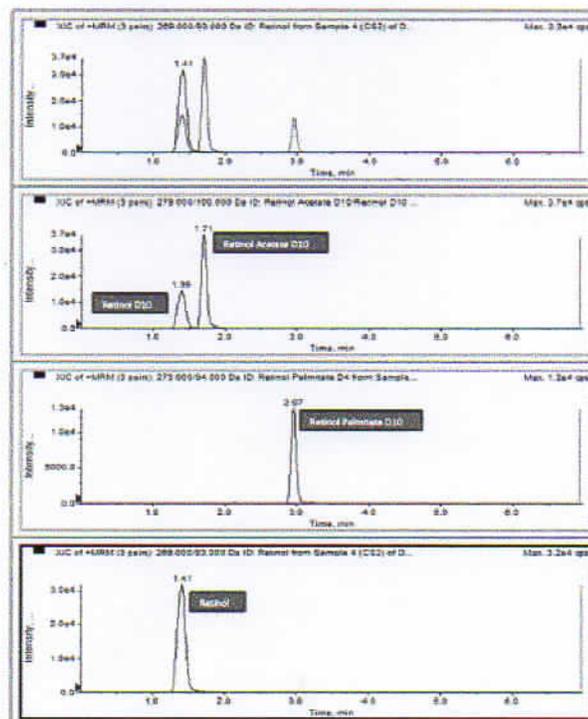
Baseline = sebelum diberi isotop stabil retinyl A



Gambar 1. Preparasi isotop stabil vitamin A, sosialisasi penelitian kepada para orangtua, pemberian isotop stabil vitamin A sampling darah responden anak usia balita, dan preparasi serum di Puskesmas Sindang Barang, Bogor

Kelompok B adalah anak-anak diambil darahnya pada 7 jam dan 3 hari setelah pemberian isotop stabil. Kelompok C adalah anak-anak yang diambil darahnya pada 9 jam dan hari ke-3 setelah pemberian isotop stabil. Kelompok D adalah anak-anak yang diambil darahnya 13 jam dan hari ke-3 setelah pemberian isotop stabil. Kelompok E adalah anak-anak yang diambil darahnya pada hari ke-1 dan ke-3

setelah pemberian isotop stabil. Kelompok F adalah anak-anak yang diambil darahnya pada hari ke-3 dan ke-7 setelah pemberian isotop stabil. Kelompok G adalah anak-anak yang diambil darahnya pada hari ke-3 dan hari ke-14 setelah pemberian isotop stabil. Kelompok H adalah anak-anak yang diambil darahnya pada hari ke-3 dan hari ke-21 setelah pemberian isotop stabil. Pada Gambar 1 ditunjukkan kegiatan preparasi isotop stabil vitamin A, sosialisasi penelitian, sampling darah anak, pemberian isotop stabil vitamin A, preparasi serum. Kondisi HPLC untuk analisis vitamin A telah diperoleh, sehingga setiap puncak kromatogram vitamin A dapat dipisahkan (Gambar 2). Kadar retinol dalam serum darah 40 anak berkisar antara 74,9 sampai 234 ng/mL. Kadar vitamin A dalam serum anak-anak Sindang Barang, Bogor sedang dalam proses perhitungan.

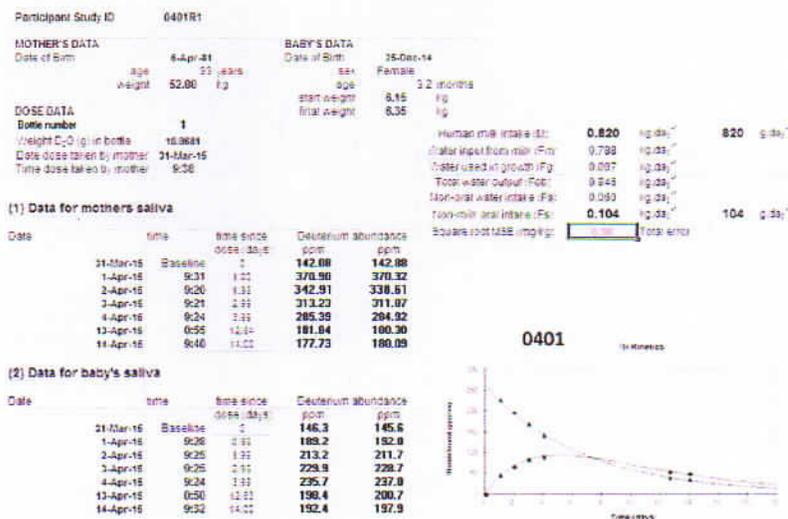


Gambar 2. Kromatogram senyawa standar vitamin A dan serum

Pada Gambar 3 ditunjukkan kegiatan sampling saliva ibu dan bayi, pemberian D₂O kepada ibu. Telah diperoleh 420 tabung saliva dari 30 pasang ibu dan bayi usia 3 bulan. Ada 3 pasang ibu dan bayi (Kode 401, 402 dan 403) sebagai pilot sampel dan dianalisis D₂O nya di India (Gambar 4 dan 5).



Gambar 3. Penimbangan D₂O, pengambilan saliva baseline dari ibu dan bayi, pemberian D₂O kepada ibu, pengambilan saliva dari ibu dan bayi sehari setelah pemberian D₂O.



Gambar 4. Hasil analisis D₂O dalam saliva sampel 401

Bayi dengan kode 0401 menerima ASI sebanyak 820 g/hari, namun cairan selain ASI juga diterima bayi sebanyak 104 g/hari (Gambar 4). Bayi dengan ID 0402 dan 0403 juga demikian, ASI yang diterima bayi 791g/hari dan 1105 g/hari, namun selain ASI terlihat bayi juga menerima cairan lain non ASI yaitu 103 dan 69 g/hari (Gambar 5). Ketiga bayi ini belum masuk kategori bayi ASI eksklusif, mereka masuk dalam kategori “predominan ASI eksklusif “ karena masih ada cairan non ASI yang diasupnya lebih besar dari 25 g/hari (batas maksimal sebagai ASI eksklusif). Selanjutnya sampel saliva ibu dan bayi usia 6 bulan disimpan dalam

freezer suhu -40°C dan akan dikirim bila sampling saliva bayi usia 6 bulan komplit selesai semua.

0402

Human milk intake (M)	0.791	kg.day ⁻¹	791	g.day ⁻¹
Water input from milk (Fm)	0.760	kg.day ⁻¹		
Water used in growth (Fg)	0.005	kg.day ⁻¹		
Total water output (Fob)	0.915	kg.day ⁻¹		
Non-oral water intake (Fa)	0.058	kg.day ⁻¹		
Non-milk oral intake (Fs)	0.103	kg.day ⁻¹	103	g.day ⁻¹
Square root MSE (mg/kg)	6.21	Total error		

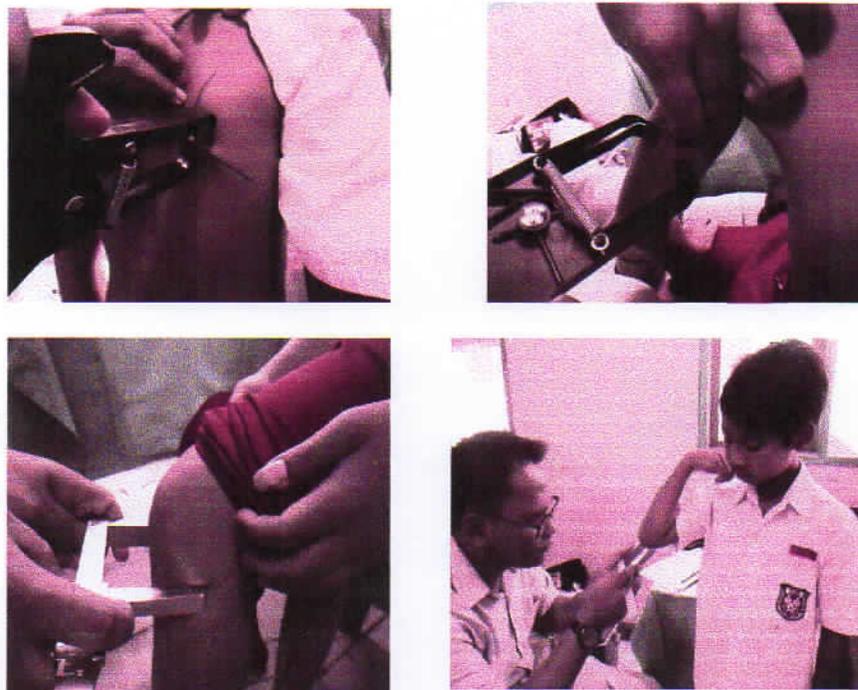
0403

Human milk intake (M)	1.105	kg.day ⁻¹	1105	g.day ⁻¹
Water input from milk (Fm)	1.062	kg.day ⁻¹		
Water used in growth (Fg)	0.014	kg.day ⁻¹		
Total water output (Fob)	1.193	kg.day ⁻¹		
Non-oral water intake (Fa)	0.076	kg.day ⁻¹		
Non-milk oral intake (Fs)	0.069	kg.day ⁻¹	69	g.day ⁻¹
Square root MSE (mg/kg)	6.18	Total error		

Gambar 5. Hasil perhitungan D2O dan jumlah ASI yang diterima bayi usia 3 bulan dari ibunya



Gambar 6a. Sosialisasi penelitian kepada para orang tua dan siswa, penandatanganan lembar persetujuan kesediaan ikut penelitian, antropometri, dan wawancara tentang sosio ekonomi keluarga responden, diet makanan, riwayat kesehatan dan aktivitas fisik anak.



Gambar 6b. Antropometri anak

Hasil yang diperoleh dari pengumpulan data di SDN Pabrik Es, Bogor untuk mempelajari hubungan komposisi tubuh anak dan aktivitas fisik anak adalah 121 berkas data antropometri, riwayat kesehatan, diet makanan, aktivitas fisik anak. Pengumpulan data telah dilakukan pada tanggal 18 Januari sampai 2 Februari 2016 (Gambar 6). Pemasukan/pencatatan data anak sedang dilakukan pada *spread sheet excel* yang telah dibuat oleh IAEA. Sampling saliva diperoleh 363 tabung saliva anak @ 2 mL. Analisis D₂O dalam saliva menunggu alat FTIR dari IAEA yang akan tiba pertengahan tahun 2016 di PAIR-BATAN.

Pada penelitian teknik nuklir untuk mendeteksi toxin *Paralytic Shellfish Poisoning* (PSP) dalam kekerangan dilakukan pada sampel kerang hijau yang diambil dari Teluk Hurun, Lampung. Selain itu dilakukan analisis beberapa parameter lingkungan seperti nitrat, nitrit, ammonia, fosfat dan pH. Parameter lingkungan perlu dilakukan untuk mengetahui ketersediaan nutrient di perairan, bila ketersediaan nutrient berlebih, maka akan terjadi ledakan populasi algae (HAB). Tabel 2 menunjukkan hasil analisis nitrat, nitrit, ammonia, fosfat dan pH dalam sampel air yang diambil dari perairan Teluk Hurun, Lampung. Sampel plankton diambil dan dianalisis untuk mengetahui jenis-jenis algae yang ada di perairan Teluk Hurun, Lampung. Adanya jenis algae yang dapat mengakibatkan HAB, akan

mengakibatkan ikan mati. Jenis plankton yang ada di perairan Teluk Hurun, Lampung dapat dilihat dalam Tabel 3.

Tabel 2. Data kualitas parameter air laut di Teluk Hurun

No.	Kode Sampel	Parameter								
		DO (mg/l)	Temp (°C)	Kedalaman (m)	Sal (psu)	pH	NO ₂ (mg/l)	NO ₃ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	PO ₄ (mg/l)
1	St I	6,1	29,0	1,6	32	7,99	0,118	0,408	0,062	0,158
2	St II	6,27	28,9	4,5	31	8,03	0,187	0,385	0,265	0,114
3	St III	6,46	29,0	7,0	31	8,05	0,138	0,459	0,070	0,087
4	St IV	7,27	29,3	19	33	8,01	0,110	0,642	0,082	0,094
5	St V	6,13	29,4	6	32	8,1	0,097	0,623	0,076	0,061

Note : St I : Ujung Bom

St II : Pulau Pasaran 1

ST III : Pulau Pasaran 2

St IV : Teluk Hurun 1

St V : Teluk Hurun 2

Tabel 3. Hasil penghitungan fitoplankton di Teluk Hurun Lampung

No	Jenis plankton	Kelimpahan sel/L				
		St I	St II	St III	St IV	St V
1	<i>Pseudonitzschia</i>	3270	16350	9810	16350	1635
2	<i>Alexandrium cattonella</i>	817	9810	3270	1635	1635
3	<i>Dinophysis</i>	205	817	409	612	817
4	<i>Gymnodinium</i>	0	817	817	1635	0
5	<i>Prorocentrum</i>	205	3270	1635	3270	817
6	<i>Pyrodinium</i>	817	0	817	0	0

Note : St I : Ujung Bom 2015

1. St I (Ujung Bom)

2. St II (P. Pasaran 1)

3. St III (P. Pasaran 2)

4. St IV (T. Hurun 1)

5. St V (T. Hurun 2)

Penentuan kadar saxitoxin ditentukan dengan metode *Receptor Binding assay* (RBA). Teknik nuklir dengan menggunakan ³H saxitoxin sebagai perunut, mampu mendeteksi toksin PSP dalam kerang sampai 1 µg STX/ 100 g kerang basah. Diharapkan dengan mengetahui sebaran toksin PSP nya, dapat memberikan informasi apakah di daerah peternakan ikan dan kerang sering terjadi HAB. Hasil analisis kadar toksin dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil Analisis Saxitoxin dalam kerang hijau hanya terdapat di stasiun 2 dan 5, menunjukkan di stasiun 2, kadar saxitoxin sudah melewati nilai ambang batas yang ditentukan yaitu sebesar 111,06 ug STX eq/100 g sm. Nilai ambang batas Saxitoxin dalam kekerangan 80µg/100 g sampel.

Parameter lingkungan antara lain pH, DO, suhu, turbiditas dan salinitas dapat dilihat pada Tabel 5. Pengamatan bentik hasil pengambilan dengan teknik *window screening* dapat dilihat dalam Tabel 6, 7, 8 dan 9. Dari hasil pengamatan ditemukan antara lain *Prorocentrum* dan *Ceratium* yang dapat menghasilkan ciguatoxin.

Tabel 4. Hasil Analisis Saxitoxin yang diambil dari perairan Teluk Hurun

Sampel	ug STX eq/kg sm	ug STX eq/100 g sm
Stasiun 2	1110,61	111,06
Stasiun 5	647,32	64,73

Tabel 5. Data kualitas parameter air laut di Pulau Pari

Parameter	Lokasi			
	Rumput Laut	Pasir	Karang	Padang Lamun
pH	7.03	7,02	6.94	6.82
Salinitas	3.16	3.21	3.24	3.22
DO	6.84	7.04	7.56	7.62
Suhu	31.3	31.3	30.6	30.8
Konduktivitas	48.2	49	49.3	49.2
Turbiditas	5	6	10	6
Fosfat total (PO ₄) (mg/L)	0.02	0.01	0.01	0,02
Amonia total (NH ₃ -N) (mg/L)	0.01	0.02	0.03	0.03
Nitrat (NO ₃ N) (mg/L)	0.5	0.5	0.5	0.5
Nitrit (NO ₂) (mg/L)	0.002	0.002	0.002	0.002

Tabel 6. hasil penghitungan fitoplankton di Karang

No.	FITOPLANKTON	Coral			
		1	2	3	4
DIATOMAE					
1	<i>Asterionella</i>	3	13	6	8
2	<i>Amphora</i>		1	2	
3	<i>Coscinodiscus</i>			1	
4	<i>Coconeis</i>	1	2	2	
5	<i>Chaetoceros</i>	5		3	2
6	<i>Comphydiscus</i>				
7	<i>Climacosphenia</i>		2	1	
8	<i>Diatoma</i>				
9	<i>Diploneis</i>				
10	<i>Fragillaria</i>				

11	<i>Lycmophora</i>				
12	<i>Lauderia</i>				
13	<i>Mestogloia</i>				
14	<i>Navicula</i>	2			1
15	<i>Nitzschia</i>	33	29	15	41
16	<i>Planktoniella</i>				
17	<i>Rhizosolenia</i>	1		1	
18	<i>Skeletonema</i>		6		
19	<i>Surirella</i>	3			
20	<i>Thalassiosira</i>	4	3	4	15
21	<i>Thalassiothrix</i>	2	16		
	DINOFLAGELLATA				
22	<i>Alexandrium</i>				
23	<i>Ceratium</i>				
24	<i>Prorocentrum</i>				1
25	<i>Protoperdinium</i>				

Tabel 7. hasil penghitungan fitoplankton di Rumpun Laut

No.	FITOPLANKTON	Sea Weed			
		1	2	3	4
	DIATOMAE				
1	<i>Asterionella</i>	6	12		
2	<i>Amphora</i>	2	2		4
3	<i>Coscinodiscus</i>		1		
4	<i>Coconeis</i>		1	2	
5	<i>Chaetoceros</i>	2	2		4
6	<i>Comphydiscus</i>				
7	<i>Climacosphenia</i>				
8	<i>Diatoma</i>				
9	<i>Diploneis</i>				
10	<i>Fragillaria</i>				
11	<i>Lycmophora</i>			7	4
12	<i>Lauderia</i>				
13	<i>Mestogloia</i>				
14	<i>Navicula</i>				
15	<i>Nitzschia</i>	72	129	47	211
16	<i>Planktoniella</i>				
17	<i>Rhizosolenia</i>			1	2
18	<i>Skeletonema</i>		8		
19	<i>Surirella</i>				
20	<i>Thalassiosira</i>	7	1	2	9
21	<i>Thalassiothrix</i>		2		
	DINOFLAGELLATA				
22	<i>Alexandrium</i>				
23	<i>Ceratium</i>				
24	<i>Prorocentrum</i>				
25	<i>Protoperdinium</i>	1			

Tabel 8. hasil penghitungan fitoplankton di Padang Lamun

No.	FITOPLANKTON	L a m u n			
		1	2	3	4
DIATOMAE					
1	<i>Asterionella</i>		3	2	5
2	<i>Amphora</i>		2	3	2
3	<i>Coscinodiscus</i>	1	1		1
4	<i>Coconeis</i>	5	1	3	3
5	<i>Chaetoceros</i>		2		
6	<i>Comphydiscus</i>				
7	<i>Climacosphenia</i>		2		
8	<i>Diatoma</i>				
9	<i>Diploneis</i>				1
10	<i>Fragillaria</i>		5		
11	<i>Lycmophora</i>				
12	<i>Lauderia</i>			3	
13	<i>Mestogloia</i>				
14	<i>Navicula</i>	2	4	2	2
15	<i>Nitzschia</i>	41	53	39	27
16	<i>Planktoniella</i>		1		
17	<i>Rhizosolenia</i>	2			1
18	<i>Skeletonema</i>				
19	<i>Surirella</i>			1	
20	<i>Thalassiosira</i>	3	5	4	4
21	<i>Thalassiothrix</i>				
DINOFLAGELLATA					
22	<i>Alexandrium</i>	1			
23	<i>Ceratium</i>			1	
24	<i>Prorocentrum</i>			1	1
25	<i>Protoperidinium</i>				

Tabel 9. hasil penghitungan fitoplankton di Pasir

No.	FITOPLANKTON	P a s i r		
		1	2	3
DIATOMAE				
1	<i>Asterionella</i>	4		
2	<i>Amphora</i>	1	1	3
3	<i>Coscinodiscus</i>	2	1	1
4	<i>Coconeis</i>	3	2	7
5	<i>Chaetoceros</i>	2	8	
6	<i>Comphydiscus</i>	1		
7	<i>Climacosphenia</i>			
8	<i>Diatoma</i>			3
9	<i>Diploneis</i>	2		
10	<i>Fragillaria</i>			
11	<i>Lycmophora</i>	2		
12	<i>Lauderia</i>	3	3	

13	<i>Mestogloia</i>	1		
14	<i>Navicula</i>	4	2	2
15	<i>Nitzschia</i>	44	58	79
16	<i>Planktoniella</i>			
17	<i>Rhizosolenia</i>		2	1
18	<i>Skeletonema</i>			
19	<i>Suirella</i>	2	1	2
20	<i>Thalassiosira</i>	7	8	6
21	<i>Thalassiothrix</i>		4	2
DINOFLAGELLATA				
22	<i>Alexandrium</i>		2	
23	<i>Ceratium</i>		1	
24	<i>Prorocentrum</i>		2	4
25	<i>Protoberidinium</i>		1	

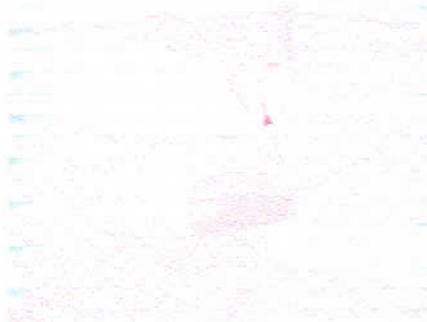
Sampel beras yang diperoleh disiapkan untuk analisis isotop alamnya (C^{13} , N^{15} , H^2 dan O^{18}) dan *trace element*. Analisis isotop alam dan *trace element* sedang dilakukan di New Zealand.



Gambar 7. Foto kerang hijau yang dibudidayakan di seutas tali di teluk Hurun Lampung



Gambar 8. pengukuran parameter kualitas air



Gambar 9. *Window screening* yang sudah dipasang



Gambar 10. *Penyaringan window screening*, setelah dikocok sekitar 5 detik, menggunakan filter 20 μm

KESIMPULAN

1. Kadar retinol dalam serum darah 40 anak berkisar antara 74,9 sampai 234 ng/mL.
2. Tiga sampel saliva bayi (pilot sampel) masuk kategori “predominan ASI eksklusif”. Sampel saliva ibu dan bayi telah diperoleh dari 30 pasang ibu dan bayi usia 3 bulan dan 25 pasang ibu dan bayi usia 6 bulan.
3. Telah diperoleh data antropometri, sosio ekonomi, diet makanan, dan aktivitas fisik dari 121 anak SDN Pabrik Es, Bogor.
4. Dari hasil penelitian sampel kerang dari teluk Hurun, Lampung kerang di stasiun 2 (Pulau Pasaran 1) mengandung PSP Toksin diatas nilai ambang batas yang ditentukan. Ditemukannya benthik yang dapat menghasilkan racun ciguatoxin di Pulau Pari .

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada para staf Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik, Balitbangkes Bogor yang telah membantu penelitian ini dan menyediakan fasilitas tempat sampling saliva di Cohort Tumbuh Kembang, Bogor sehingga berlangsung dengan baik, kepada pemerintah RI yang telah memberikan dukungan dana penelitian dan kepada IAEA yang telah memberikan deuterium oksida dan bahan sampling saliva melalui RAS6/073 dan RAS6/080. Terimakasih juga disampaikan kepada Dr. Georg Lietz (Universitas Newcastle, UK) yang telah memberikan saran pada penelitian ini, juga kepada dr. Utami Sulistyaningsih (Kepala Puskesmas Sindang Barang), Fitri Rizki Mulya, SP dan para staf Puskesmas Sindang Barang, bapak Wahyudi (Kepala SDN Pabrik Es, Bogor) dan para guru yang telah membantu penelitian ini sehingga dapat berlangsung dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Riset kesehatan Dasar 2013, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
2. Oxley, A., Berry, P., Taylor, G.A., Cowell, J., Hall, M.J., JohnHesketh, J., Lietz, G. and Boddy, AV., An LC/MS/MS method for stable isotope dilution studies of β -carotene bioavailability, bioconversion, and vitamin A status in humans, *J. Lipid Res.* 2014, Feb; 55(2): 319–328.

3. Tanumihardjo, S.A., Vitamin A : biomarkers of nutrition for development, *Am J Clin Nutr.*, 2011.
4. Force, V., Appropriate uses of Vitamin A Tracer (Stable Isotope) Methodology, Vitamin A Tracer Task, www-naweb.iaea.org/nahu/nahres/documents/vitatracer.pdf (diakses tgl 3 Maret 2016).
5. Jus'at, I., Sandjaja, Sudikno, Ernawati, F., Hubungan Kekurangan Vitamin A dengan Anemia pada Anak Usia Sekolah, *Gizi Indon* 2013, 36(1):65-74.
6. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Stable Isotope Technique to Assess Intake of Human Milk in Breastfed Infants, IAEA Human Health Series No. 7, Vienna, 2010, 10-18.
7. Moore, SE, Prentice, AM, Coward, WA, Wright, A, Frongillo, EA, Fulford, AJ, Mander, AP, Persson, LA, Arifeen, SE, Kabir, I., Use of stable-isotope techniques to validate infant feeding practices reported by Bangladeshi women receiving breastfeeding counseling, *Am J Clin Nutr.* 2007 Apr; 85(4):1075-82.
8. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Body Composition Assessment from Birth to Two Years of years, IAEA Human Health Series No. 22, Vienna, 2013, 4-12.
9. Bandara, T., Hettiarachchi, M., Liyanage, C., Amarasena, S. and Wong, WW, Body composition among Sri Lankan infants by ^{18}O dilution method and the validity of anthropometric equations to predict body fat against ^{18}O dilution *BMC Pediatrics* (2015) 15:52.
10. Muawanah, 2011, Kondisi terkini : Dominasi HAB's di Teluk Hurun, Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung.
11. Receptor Binding Assay Technicue for Harmfull Algal Bloom Toxins Quantification, UNDP/EAEA/ subproject Application of Nuclear Techniques to Address Specific harmfull Algal Bloom Concerns, Regional Resource.
12. "Glossary," *ASME Boiler and Pressure Vessel Code*, Section III, Article NCA-9000.
13. Ghidini S, Ianieri A, Zanardi E, Conter M, Boschetti T, Iacumin P, Bracchi. P. G Stable.
14. Isotopes determination in food authentication: a review, *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma.*(Vol. XXVI, 2006) pag. 193 - pag. 204.
15. L. Pillonela, R. Badertschera, P. Froidevauxb, G Haberhauerc, S. Holzld, P. Hornd, A. Jakobe, E. Pfammatterf, U. Piantinig, A. Rossmannh, R. Tabacchii, J.O. Bosseta, Stable isotope ratios, major, trace and radioactive elements in emmental cheeses of different origins, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 36 (2003) 615–623.