

ANALISIS PROPOKSUR LD50 TERHADAP PERTUMBUHAN LARVA LALAT *Sarcophaga sp.* DENGAN KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROMETRI MASSA

Faizal Arief Nurokhman¹, Prof. Dr. Ahmad Basori, Drs., M.S., Apt.²,
Prof. Dr. rer. nat. M. Yuwono, M.S., Apt.³

Program Studi S2 Ilmu Forensik, Sekolah Pascasarjana, Universitas Airlangga Surabaya
e-mail: faizalarief@gmail.com

Abstrak

Kasus kematian keracunan pestisida banyak dijumpai di Indonesia maupun dunia. Jenis pestisida yang banyak dijumpai adalah golongan karbamat, salah satunya propoksur. Propoksur merupakan zat yang mudah menguap. Penelitian ini bertujuan menganalisis kadar propoksur pada sampel larva lalat *Sarcophaga sp.* dan mengidentifikasi pengaruhnya terhadap pertumbuhan larva lalat. Dosis propoksur menggunakan dosis LD50 dengan volume 100 mg/kgBB. Media tumbuh yang digunakan adalah tikus putih galur wistar. Pengamatan dilakukan pada empat variable stadium larva yakni instar II, instar III, pupa dan dewasa. Setiap stadium dilakukan replikasi sebanyak lima kali. Larva dikoleksi lalu diukur panjang dan beratnya setiap hari hingga mencapai stadium dewasa, selanjutnya larva lalat diekstraksi dengan metode cair-cair. Hasil ekstraksi sampel diinjeksikan ke KG-SM sebanyak 1 µl. KG-SM diatur dengan parameter suhu inlet 250°C, injeksi splitless. Gas pembawa Helium berkecepatan 1,2 ml/menit. Hasil validasi metode didapatkan nilai regresi 0,9984, nilai akurasi 100,4-107%, nilai presisi 3,023%. Hasil profil kadar propoksur menunjukkan penurunan pada tiga stadium awal dan meningkat pada stadium dewasa. Untuk hasil distribusi menunjukkan pertumbuhan panjang larva kelompok perlakuan cenderung lebih panjang, pertumbuhan berat larva kelompok kontrol cenderung lebih besar dibanding kelompok perlakuan. Analisis data dengan ANOVA satu arah ada pengaruh yang signifikan kadar propoksur terutama pada stadium dewasa dan analisis T-test sampel independen pertumbuhan larva menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penelitian ini menunjukkan penggunaan metode KG-SM dapat digunakan dalam penentuan penyebab kematian akibat keracunan pestisida propoksur. Untuk kedepannya dapat dikembangkan untuk meneliti racun jenis lain pada kasus kematian keracunan yang belum diketahui penyebabnya.

Kata kunci: forensik entomologi, larva, lalat, pasca merta, kromatografi gas-spektrometri massa.

Abstract

Death cases of pesticide poisoning are common in Indonesia and the world. Types of pesticides that are commonly found are carbamates, one of them is propoxur. Propoxur is a volatile substance. This study aims to analyze the level of propoxure in the sample of *Sarcophaga* sp. fly larvae and to identify their effect on the growth of fly larvae. The dosage of propoxur using dose LD50 with volume 100 mg / kgBB. The growing medium used was the wistar strain white rat. Observations were performed on four larval stage variables which is instar II, instar III, pupa and adult. Each stage is replicated five times. The larvae are collected and then measured the length and weight each day until it reaches the adult stage, then the fly larvae is extracted by liquid-liquid method. The result of the sample extraction is injected into KG-SM by 1 μ l. KG-SM is set with the inlet temperature parameter 250oC, splitless injection. Helium carrier gas speed 1.2 ml / min. The result of validation method got regression value 0,9984, accuracy value 100,4-107%, precision value 3,023%. Profile profiles of propoxur content showed decrease in the first three stages and increased in adult stage. For the distribution result showed that the length of larvae of the treatment group tends to be longer, the weight of control group larvae tend to be larger than the treatment group. Data analysis with one-way ANOVA was significantly influenced by propoxur content especially in adult stage and T-test of independent sample of larval growth showed significant difference between control group and treatment group. This study shows KG-SM method can be used in determining the cause of death due to poisoning of propoksur pesticide. For the future can be developed to examine other types of toxins in cases of poisoning deaths that the cause have not been known.

Keywords: entomology forensics, larvae, flies, postmortem, gas chromatography-mass spectrometry.

1. PENDAHULUAN

Angka kematian tidak wajar akibat racun atau zat kimia lain masih banyak dijumpai. Pestisida merupakan salah satu zat kimi yang banyak menyebabkan kasus keracunan. Kasus keracunan akut pestisida (*acute pesticide poisoning*/APP) secara signifikan meningkat angka kesakitan dan kematian di seluruh dunia, khususnya negara-negara berkembang. Tidak ada angka perkiraan pasti berapa jumlah orang yang mengalami gangguan kesehatan akibat terpapar pestisida. Laporan Badan Kesehatan Dunia dalam WHO's World Report on Violence and Health tahun 2002 menyebutkan bahwa terjadi 1,6 juta kematian dengan kekerasan terhadap diri sendiri dan 63% terjadi di wilayah Asia Pasifik. Angka bunuh diri pada negara-negara Asia Tenggara dan Pasifik tahun 2000 tercatat sebesar 71% (512.000 dari 722.000) (Eddleston & Philips, 2004).

Kasus bunuh diri dengan meracuni diri (*self poisoning*) menggunakan racun pestisida sangat marak di Indonesia. Data di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta pada tahun 2004-2005 terdapat 1.119 kasus bunuh diri, yang menggunakan racun serangga sebanyak 23%. Penelitian di Rumah Sakit Pringadi Medan pada tahun 2006-2011 mencatat sebanyak 116 kasus meracuni diri sendiri, dimana 61,2% (71 kasus) menggunakan racun pestisida rumah tangga seperti Baygon, Soffel, racun tikus dan racun hama (Pardede, 2012).

Propoksur [nama dagang- Baygon®, 2(1-methylethoxy)phenol methyl carbamate)] merupakan insektisida golongan karbamat yang dikembangkan oleh perusahaan Bayer AG di Jerman. Saat ini telah banyak digunakan sebagai pengendali hama kecoa, jangkrik, kutu, lalat, nyamuk, tawon, dan kutu baik dalam lingkungan kerja atau rumah tangga. Propoksur mudah terserap dalam tanah dan terbawa air, namun karena sifatnya yang mudah terdekomposisi propoksur dianggap mempunyai potensi pencemar lingkungan persisten. Paparan akut propoksur akan menyebabkan proses karbamilasi dari enzim kolinesterase yang memproduksi akumulasi asetilkolin. Asetilkolin ini menyebabkan efek muskarinik (diare, gangguan berkemih, miosis, bradikardia, bronkorea, muntah, lakrimasi, dan berkeringat banyak) dan efek nikotinik (fasikulasi, kelemahan, dan kelumpuhan) (Environmental Protecting Agency, 1992).

Penentuan kematian tidak alami yang diduga disebabkan oleh keracunan zat kimia

(misalnya, pestisida Baygon) tidak dapat didasarkan hasil pemeriksaan lambung semata. Menurut Idries (2008), lambung masih diartikan sebagai dunia luar, korban mati dapat disebabkan oleh hal lain tapi untuk menutupi hal itu dimasukkan racun ke dalam mulut dan lambung korban. Oleh sebab itu diperlukan pemeriksaan tambahan dari darah dan urine korban atau organ dalam lainnya untuk membuktikan bahwa racun telah masuk saat korban masih hidup dan didistribusikan ke seluruh tubuh.

Pada kasus mati keracunan yang ditemukan dalam waktu hari, minggu hingga bulan akan semakin sulit mengidentifikasi penyebab dan waktu kematiannya. Proses pembusukan tentu sudah terjadi dan dapat mengaburkan zat-zat kimia toksik yang ada di dalam tubuhnya. Penyebab kematian dan waktu kematian (*Post-mortem interval*/PMI) menjadi lebih sulit ditegakkan. Pengembangan metode baru dengan menggunakan serangga sebagai alat bantu dalam proses identifikasi mayat, ilmu ini disebut dengan entomologi forensik. Beberapa jenis serangga mempunyai sifat atau kebiasaan untuk berkoloni, berkembang biak dan mencari makanan pada jenazah atau jasad biologis. Serangga ini disebut serangga pemakan jenazah (*necrofagus*). Peranan serangga yang berada disekitar jenazah dapat menjadi jam biologis untuk menghitung waktu perkiraan sejak kematian atau lebih dikenal sebagai *post-mortem interval* (PMI) atau interval pasca merta (Amendt, et al., 2010).

Penelitian mengenai insektisida golongan karbamat, khususnya propoksur yang dapat menimbulkan intoksikasi penyebab penyakit dan kematian pada manusia belum banyak dilakukan. Metode-metode penelitian yang sudah dilakukan masih bisa dikembangkan lagi untuk menentukan interval pasca merta dengan menggunakan bantuan serangga. Peneliti merasa perlu dilakukan studi untuk mendeteksi secara kuantitatif dan kualitatif pengaruh propoksur dengan proses dekomposisi kadaver oleh serangga, untuk mendukung metode penyelidikan secara medikolegal.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang kematian

Kematian didefinisikan sebagai berhentinya kehidupan secara *irreversible*. Mati diklasifikasikan sebagai mati somatik dan mati molekuler. Ketika tiga penyangga (disebut juga "tripod") yakni otak, paru-paru dan jantung berhenti sepenuhnya, itu disebut kematian

somatik. Kematian molekul terjadi sekitar 3-4 jam setelah kematian somatik saat sel-sel individual dan jaringan mulai sekarat dan tanda-tanda dekomposisi mulai tampak (Sharma, 2011).

Tanda kematian dapat diklasifikasikan menjadi berikut (Sharma, 2011):

- 1) Perubahan segera
Ditandai dengan berhentinya secara permanen pernapasan dan sirkulasi darah.
- 2) Perubahan awal
 - a) Perubahan pada pupil mata
 - b) Perubahan pada kulit
 - c) Penurunan suhu tubuh
 - d) Adanya lebam mayat
- 3) Perubahan lanjut
 - a) Rigor mortis
 - b) Putrefakasi
 - c) Adiposera
 - d) Mumifikasi

Tahapan ini ditandai adanya kerusakan kulit dan mengakibatkan gas keluar dari tubuh.

2.2 Tahapan tentang dekomposisi

Peristiwa dekomposisi melibatkan berbagai aspek selain faktor biotik, yakni faktor abiotik yang meliputi parameter fisik seperti temperatur, kelembaban, dan lain-lain. Menurut Goff (2000) dan Gennard (2012), tahapan dekomposisi terdiri dari lima tahap antara lain:

- 1) Tahap 1 (*fresh stage*)
Tahapan dimulai pada saat kematian dan ditandai adanya tanda penggelembungan pada tubuh. Serangga yang pertama kali datang adalah lalat dari famili Calliphoridae dan Sarcophagidae. Lalat betina akan meletakkan telurnya di daerah yang terbuka seperti daerah kepala (mata, hidung, mulut, dan telinga).
- 2) Tahap 2 (*bloated stage*)
Merupakan tahapan pembusukan yang sedang dimulai. Gas yang dihasilkan oleh aktivitas metabolisme bakteri anaerob menyebabkan penggelembungan pada perut mayat. Selanjutnya suhu internal naik selama tahapan ini sebagai akibat dari aktivitas bakteri pembusuk dan aktivitas metabolisme dari larva lalat. Lalat dari famili Calliphoridae sangat tertarik pada mayat selama tahapan ini. Kemudian selama mengembang akibat adanya gas, cairan dalam tubuh terdorong keluar dari lubang-lubang tubuh dan meresap ke dalam tanah. Cairan tersebut tersusun oleh senyawa seperti amonia yang dihasilkan oleh aktivitas metabolisme dari larva lalat sehingga akan menyebabkan tanah di bawah mayat itu untuk menjadi alkali (basa) dan fauna tanah menjadi tertarik untuk menuju ke mayat.
- 3) Tahap 3 (*decay stage*)

Larva lalat membentuk gerombolan yang besar pada mayat. Meskipun beberapa serangga predator, seperti kumbang, tawon, dan semut, pada tahap bloated stage, serangga pemakan bangkai dan predator dapat diamati dalam jumlah besar menjelang tahapan ini berakhir. Pada akhir tahap ini, lalat dari famili Calliphoridae dan Sarcophagidae telah menyelesaikan perkembangan siklusnya dan meninggalkan mayat untuk menjadi pupa. Pada akhir tahap ini, larva lalat akan menghilang dari jaringan tubuh pada mayat.

4) Tahap 4 (*postdecay stage*)

Pada tahap ini sisa-sisa tubuh seperti kulit, kartilago dan usus sudah mengalami pembusukan. Selanjutnya sisa jaringan tubuh yang masih ada akan mengering. Indikator pada tahap ini adalah hadirnya kumbang dan berkurangnya dominansi lalat di dalam tubuh mayat.

5) Tahap 5 (*skeletal stage*)

Pada tahap ini hanya tersisa tulang belulang dan rambut. Tahapan ini tidak jelas serangga apa saja yang hadir. Pada kasus tertentu, kumbang dari famili Nitidulidae terkadang ditemukan. Tubuh mayat sudah mengalami akhir dari dekomposisi.

2.3 Tinjauan tentang entomotoksikologi forensik

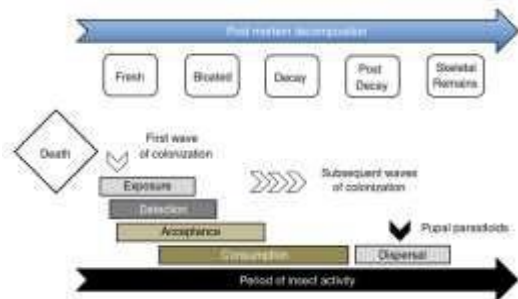
Entomotoksikologi merupakan cabang baru dari entomologi forensik yang menganalisis racun pada arthropoda (umumnya lalat dan kumbang) yang memakan jaringan tubuh mayat. Menggunakan arthropoda yang ditemukan dalam mayat di tempat kejadian, penyelidik dapat mendeteksi apakah racun benar-benar ada dalam tubuh saat terjadi kematian.

Ahli entomologi forensik sering diminta untuk memeriksa bukti arthropoda yang ditemukan pada mayat dan menentukan penyebab kematian dan berapa lama arthropoda tersebut sudah ada pada mayat atau tempat kejadian. Periode waktu ini sering diinterpretasikan sebagai postmortem interval (PMI), atau waktu kematian (Amendt, et al., 2004). Penilaian PMI ditentukan dari waktu pertumbuhan arthropoda dan komunitas lanjutan darinya.

Selama proses dekomposisi pada jenazah hewan atau manusia, jenazah tersebut akan mengeluarkan senyawa kimia yang dilepaskan ke udara yang mampu menarik serangga pemakan bangkai. Ahli entomologi forensik sering memeriksa bukti serangga pada mayat manusia dan menentukan berapa lama serangga tersebut berada di mayat. Periode waktu tersebut di

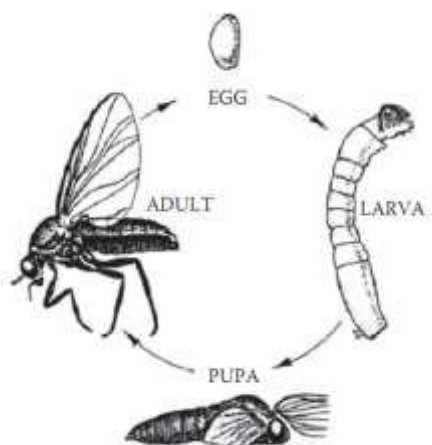
interpretasikan dalam postmortem interval (PMI) atau waktu sejak kematian. Analisis PMI terbagi menjadi dua, yakni precolonization interval (pre-CI) dan postcolonization interval (post-CI) sebagaimana dilihat pada Gambar 2.1 (Gennard, 2012).

Pada kasus entomotoksikologi tersebut, serangga-serangga yang ditemukan pada mayat dapat digunakan untuk analisis toksikologi.



Gambar 2.3 Fase entomologikal pada proses dekomposisi vertebrata (Gennard, 2012).

Salah satu contoh serangga pemakan bangkai adalah lalat yang masuk ke tubuh manusia dengan tujuan untuk bertelur, pada umumnya lalat memilih dalam lubang tubuh lembab, seperti mulut, hidung, atau mata. Setelah beberapa saat telur menetas, dan larva lalat (belatung) muncul serta memakan pada tubuh tersebut hingga membusuk. Ketika larva telah mencukupi kebutuhan untuk makanannya, maka belatung akan keluar dari tubuh mayat dan mencari tempat untuk membentuk pupa (kepompong). Pada tahap berikutnya dari siklus hidupnya, munculah generasi berikutnya yang berupa serangga dewasa (imago) yang muncul dari pupa tersebut yang siap memulai siklus selanjutnya (Gambar 2.2) (Byrd & Castner, 2010)



Gambar 2.2 Siklus hidup secara utuh dari lalat hitam (Diptera: simuliidae) (Byrd & Castner, 2010).

Namun ada kelemahan jika menggunakan analisis ini untuk menghitung interval postmortem jika salah dalam menghitung tahapan perkembangan serangga. Sehingga alternatifnya adalah mengkaji efek biomakumulasi obat dan metabolismenya pada serangga pemakan bangkai dan efeknya terhadap laju perkembangannya (Amendt et al., 2004).

2.4 Tinjauan tentang lalat

Lalat adalah salah satu insekta yang masuk Ordo Diptera, anggota kelas Hexapoda, dan merupakan insekta yang memiliki jumlah genus dan spesies terbesar hingga 60-70% dari seluruh spesies Arthropoda. Selain sebagai vektor dari berbagai macam penyakit disebut sebagai miasis, terutama penyakit-penyakit saluran pencernaan, sifat sebagian jenis lalat yang suka menetap dan berkoloni di dalam jenazah yang mati, bahan yang membusuk dan daging hidup dapat menjadi salah satu indikator dalam identifikasi forensik. Spesies ini disebut sebagai pemakan bangkai (Levine, 1994).

Spesies lalat pemakan bangkai mencari makan langsung dari jenazah, atau cairan yang keluar dari jenazah selama proses dekomposisi terjadi. Klasifikasi ekologisnya mencakup dari beberapa spesies dari Ordo Diptera dari familia Calliphoridae (blow flies) dan Sarcophagidae (flesh flies), dan beberapa spesies dari Ordo Coleoptera (kumbang). Secara spesifik spesies arthropoda yang hadir dalam jenazah sangat bervariasi tergantung dari lokasi geografisnya (Goff & Lord, 2000).

Spesies pemakan bangkai yang hadir pertama kali dan melakukan koloni pada lokasi dekomposisi jenazah adalah kelompok familia Calliphoridae, Sarcophagidae dan Muscidae (lalat rumah). Mereka berkembang dengan meletakkan telur langsung di dalam jenazah dan daur hidupnya terjadi di dalam atau dekat dari jenazah tersebut. Oleh karena itu spesies-spesies ini berperan penting dalam estimasi interval pasca merta (PMI) (Introna, et al., 2000).

2.5 Tinjauan tentang Propoksur

Propoksur (merk dagang: Baygon, 2(1-methylethoxy)phenol methyl carbamate)) adalah insektisida jenis karbamat yang diperkenalkan tahun 1959. Merupakan insektisida non-sistemik yang mampu mengatasi dan mempunyai efek residu yang panjang terhadap semut, kecoa, jangkrik, kutu, lalat, nyamuk, tawon, dan kutu.

Aktivitas biologis utama dari propoksur adalah dengan melalui karbamilasi dari enzim

kolinesterase (ChE) sehingga terjadi penghambatan. ChEs adalah keluarga enzim yang ditemukan di seluruh tubuh yang berfungsi menghidrolisis ester kolin. Dalam sistem saraf, asetilkolinesterase (AChE) terlibat dalam penghentian impuls pada seluruh sinapsis saraf termasuk penghubung neuromuskuler dengan cepat menghidrolisis neurotransmitter, asetilkolin. Penghambatan AChE mengarah pada akumulasi asetilkolin di celah sinaps yang mengakibatkan stimulasi saraf berlebih dan diikuti oleh depresi atau kelumpuhan saraf kolinergik di seluruh sistem saraf pusat dan perifer.

Paparan akut propoksur pada manusia lewat jalan tertelan mengarah kepada penghambatan enzim kolinesterase pada sel darah merah, dengan gejala kolinergik sedang seperti mata kabur, mual, muntah, berkeringat, dan takikardia; akan tetapi, efeknya bersifat sementara. Paparan kronis dapat menekan tingkat enzim kolinesterase dengan gejala nyeri kepala, mual dan muntah pada manusia. Pada uji dengan hewan terlihat juga gejala penurunan berat badan, efek pada liver dan kandung kemih, dan sedikit peningkatan pada gangguan neuropati. Menurut lembaga EPA (Environmental Protecting Agency) Amerika Serikat propoksur sebagai agen toksikan dengan level Kategori II untuk paparan per oral dan Kategori III untuk paparan per dermal.

Jumlah bahan kimia yang mematikan untuk satu-setengah (50%) dari hewan percobaan yang diberi materi disebut sebagai lethal dose fifty, atau LD50. LD50 untuk propoksur pada tikus berkisar dari 40 mg/kg hingga 110 mg/kg, sedang untuk mencit berkisar 50 mg/kg hingga 110 mg/kg (Costa, 2014). Kambing jantan berumur dua belas bulan memiliki LD50 lebih besar dari 800 mg/kg. LD50 oral untuk propoksur teknis pada tikus adalah 50 mg/kg untuk pejantan dan 104 mg/kg untuk betina. Pada tikus, keracunan propoksur mengakibatkan pola otak dan perubahan kemampuan belajar pada konsentrasi lebih rendah dibandingkan yang menyebabkan hambatan kolinesterase dan atau perubahan berat organ (Environmental Protecting Agency, 1992).

2.6 Tinjauan tentang KG-SM

2.6.1 Kromatografi Gas

Kromatografi gas (KG) digunakan untuk memisahkan campuran yang mengandung komponen-komponen yang mudah menguap (volatile) pada suhu percobaan dengan menggunakan gas sebagai fase gerak. Fase diam dapat berupa zat padat atau zat cair. Bila fase diam berupa zat padat, teknik ini disebut Gas

Solid Chromatography (GSC). Bila fase diam berupa lapisan tipis zat cair pada zat padat

Jurnal Biosains Pascasarjana Vol. 20 (2018) pp
© 2018 Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga,
(penyangga) yang inert, kromatografi ini disebut
Gas Liquid Chromatography (GLC).

Teknik kromatografi gas mempunyai keunggulan dalam hal kecepatan, kesensitifan, kespesifikan yang jauh lebih unggul (terutama jika dikombinasi dengan Spektrometri Massa) dan dapat digunakan untuk menganalisis sampel gas, zat padat, atau zat cair berukuran mikro untuk kualitatif dan kuantitatif (Harmita, 2009).

2.6.2 Spektrometri Massa

Spektrometri massa adalah suatu instrument yang menghasilkan berkas ion dari suatu zat uji, memilah ion tersebut menjadi spectrum sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan (m/z), dan merekam kelimpahan relative tiap jenis ion yang ada. Sehingga spektrometri massa dapat digunakan untuk mengukur perbandingan massa ion terhadap muatan, menetapkan kelimpahan ion, dan mempelajari proses ionisasi.

Secara umum, spektrometri massa terdiri dari tiga komponen utama yaitu: 1) sumber ion untuk menghasilkan ion berbentuk gas dari zat uji; 2) penganalisis untuk memisahkan ion menjadi komponen massa yang khas sesuai dengan perbandingan antara massa dan muatan ion yang ada; dan 3) sistem detector untuk merekam kelimpahan relative atau intensitas tiap jenis ion yang dipisahkan (Harmita, 2009).

3. METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini menggunakan sampel larva lalat *Sarcophaga sp.* pada stadium instar II, instar III, pupa dan dewasa. Tikus putih galur wistar digunakan sebagai media tumbuh pengganti kadaver. Jumlah sampel yang diambil sebanyak 5 larva setiap stadium. Jenis penelitian ini adalah penelitian ekperimental observasional laboratorium dengan menggunakan pendekatan longitudinal perspektif untuk mengetahui pengaruh pemberian propoksur dosis LD50 pada jenazah tikus terhadap larva lalat *Sarcophaga sp.*

Pengujian pada penelitian ini meliputi dua kegiatan yakni 1) pengukuran pertumbuhan larva lalat *Sarcophaga sp.* kelompok kontrol dan perlakuan dan 2) identifikasi kadar propoksur dengan menggunakan metode Kromatografi Gas-Spektrometri Massa. Hasil penelitian dianalisa menggunakan uji Anova Satu Arah dan T-test Sampel Independen untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh kadar propoksur terhadap pertumbuhan larva lalat *Sarcophaga sp.* Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kedokteran Forensik Fakultas Kedokteran Unair, Laboratorium Terpadu Universitas Muhammadiyah Purwokerto dan Unit Layanan

Terpadu Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Surabaya.

neraca analitik, gunting stainless steel, wadah

3.1 Persiapan Media Tumbuh

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang digunakan sebagai media tumbuh memiliki kriteria sebagai berikut: 1) kelamin jantan, 2) umur 8-12 minggu, 3) berat 200-300 gram, 4) kondisi sehat dan tidak ada abnormalitas. Tikus media tumbuh dibagi menjadi dua kelompok yakni kelompok perlakuan yang akan diberi propoksur dosis LD50 per oral dan kelompok kontrol tanpa propoksur (diterminasi dengan dislokasi leher). Masing-masing kelompok hanya menggunakan satu ekor untuk media tumbuh. Sebelum dilakukan perlakuan, tikus terlebih dahulu dikondisikan selama seminggu dan saat akan diberikan tindakan dipuasakan 12 jam sebelumnya (hanya diberi air putih).

Setelah tikus diterminasi, dilakukan insisi pada garis tengah tubuh mulai dari pangkal leher hingga 1 cm di atas anus lalu dibuka hingga tampak orang dalamnya. Selanjutnya kedua tikus diletakkan pada dua kandang terpisah untuk kelompok kontrol dan perlakuan. Lalat *Sarcophaga sp.* yang telah disiapkan sebelumnya dimasukkan sejumlah 20 ekor ke masing-masing kandang. Kandang ditutup dengan kawat/kain jaring agar terjaga dari hewan lain yang masuk.

3.2 Pengambilan Sampel

Masing-masing kelompok pengamatan akan diambil 5 ekor larva lalat *Sarcophaga sp.* pada masing-masing stadium yaitu instar II (L2), instar III (L3), Pupa (P) dan Dewasa (D). Pemeriksaan posterior spirakel dilaksanakan ketika larva telah cukup besar untuk diiris posterior tubuhnya tanpa menghancurkan tubuhnya, yaitu pada stadium instar II. Sampel dilakukan pengamatan morfologis pada setiap pengambilan. Data kuantitatif dari pengamatan ini meliputi panjang, berat dan durasi pertumbuhan antar stadium menggunakan standar dan pedoman prosedur pengambilan sampel entomologi forensik oleh Amendt et.al (2010). Larva yang sudah diukur dan dicatat kemudian disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -20°C menunggu untuk dilakukan preparasi sampel dan analisis KG-SM.

3.3 Alat

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium analisis, *dry box*, pipet mikro dengan ukuran 1000 µL (200-1000 µL) dan 20 µL (2-20 µL),

plastik tertutup, Kromatografi Gas Agilent Technologies 6890 N dengan kolom kapiler Agilent 19091j-413 HP-5 30,0 m x 0,25 mm x 0,25 µm menggunakan gas Helium (He) dan Spektrometri Massa Agilent Technologies 5973-inert.

3.4 Bahan

Spesimen yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva lalat *Sarcophaga* sp. yang telah dikoleksi. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan kimia dalam derajat pro analisis (p.a) yang terdiri dari Larutan Propoksur standar dengan kemurnian $\geq 98\%$ yang diperoleh dari Sigma Aldrich Chemical Singapore, Carbosulfan sebagai standar internal (ISTD), methanol, dichloromethane (CH_2Cl_2), tricluoroacetic anhidrid (TFAA), tert-butyl methyl ether (TBME), air destilasi, O-phthalaldehyde (OPA), dan Asetonitrile.

3.5 Pengumpulan data

3.5.1 Preparasi larutan standar propoksur

Menimbang 2 mg standar propoksur ke dalam labu ukur 20 ml (100 mg/ml), menambahkan aseton hingga tepat tanda kemudian dikocok hingga homogen. Kemudian larutan induk standar diencerkan menjadi 60 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 25 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 1 mg/ml.

3.5.2 Proses ekstraksi dan analisis spesimen larva

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode *Liquid-liquid Extraction* (LLE) sesuai dengan model Ameno (2005). Sebanyak 2 gram spesimen larva dicampur dengan 5 ml asetonitril dan 50 µl ISTD, dihomogenkan dengan homogeniser Polyton dan disentrifuse pada 3000 rpm selama 5 menit untuk membersihkan larutan. Diperoleh endapan, ekstraksi diulangi 2 kali. Larutan bening asetonitril yang diperoleh kemudian dicampur dengan larutan NaCl 2% sebanyak 40 ml dan n-heksana/etil asetat sebanyak 12,5 ml (1:1, v/v) pada corong pisah 250 ml. Corong pisah dikocok selama 10 menit menggunakan mesin pengaduk. Lapisan n-heksana/etil asetat terbentuk. Lapisan tersebut dikeringkan pada suhu kamar. Larutan sisa dilarutkan dengan 200 µl metanol. Sampel siap diinjeksikan ke KG-SM sebanyak 1 µl.

3.5.3 Pengolahan dan analisis data

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan berupa kromatogram dengan puncak (peak), waktu retensi (tR) dan luas puncak yang kemudian dilakukan perhitungan untuk validasi metode dan kadar propoksur. Konsentrasi senyawa propoksur dalam spesimen larva lalat *Sarcophaga sp.* diperoleh dengan cara luas puncak spesimen diplotkan dalam persamaan regresi linier standar sehingga diperoleh kadar propoksur dalam spesimen rambut pasien. Kemudian dilakukan uji statistik Anova Satu Arah dan T-test Sampel Independen menggunakan software IBM SPSS Statistics 22.

3.6 Validasi Metode

3.6.1 Spesifitas/Selektifitas

Spesifitas ditentukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, atau senyawa lainnya atau sampel plasebo dengan hasil analisis sampel tanpa penambahan bahan-bahan tadi. Derajat spesifitas kedua hasil analisis tersebut merupakan ukuran selektifitas. Pada metode KG-SM, selektifitas ditentukan dari hasil puncak (*peak*), waktu retensi dan kesamaan ion spektra massanya.

3.6.2 Linieritas

Uji linieritas dilakukan dengan cara membuat persamaan regresi linier berdasarkan konsentrasi dan area, dengan rumus :

$$y = bx + a$$

dengan,

y = luas puncak (peak area)

x = konsentrasi zat

kemudian dihitung nilai koefisien korelasi.

3.6.3 LOD dan LOQ

Penentuan LOD dan LOQ menggunakan perhitungan :

$$Q = \frac{(Sb \cdot t) \cdot 3}{K}$$

dengan,

Q = LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)

K = 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitasi

Sb = simpangan baku respon analitik dari blanko

Sl = arah garis linier (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis $y = a + bx$)

3.6.4 Akurasi

Penentuan akurasi atau kecermatan diperoleh dengan mengitung persen perolehan kembali (%ER) dari analit yang ditambahkan. Untuk mengitung persen perolehan kembali menggunakan rumus:

$$\%ER = \frac{(Cf \cdot x \cdot Ca)}{C^*a} \times 100$$

Cf = konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran

Ca = konsentrasi sampel sebenarnya

C*a = konsentrasi analit yang ditambahkan

3.6.5 Presisi

Presisi diperoleh dengan menginjeksikan masing-masing standar propoksur dalam tiga kadar yang berbeda sebanyak 3 (tiga) kali, kemudian dihitung nilai presisi berdasarkan harga koefisien variasi atau %RSD.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Validasi Metode

4.1.1 Spesifitas/Selektifitas

Berdasarkan hasil analisis terlihat bahwa pada blanko hanya ditemukan puncak *ISTD* Carbosulfan dan tidak ditemukan puncak yang merupakan senyawa propoksur. Hasil

pada larutan standar terkonsentrasi menunjukkan puncak senyawa propoksur terdeteksi pada waktu retensi 4,282 pada mode Full Scan dan 4,274 pada mode SIM (*Selected Ion Monitoring*) dengan hasil faktor kecocokan mencapai nilai 92.

Mode Full Scan dilakukan terlebih dahulu guna memastikan senyawa apa yang terdapat dalam sampel tersebut, dilanjutkan analisis dengan mode SIM. Mode SIM relatif lebih peka dikarenakan dengan mode SIM senyawa-senyawa dengan ion-ion fragmentasi yang diinginkan atau dengan kelimpahan yang tinggi saja yang akan dideteksi walaupun konsentrasinya relatif rendah (Moffat et al., 2004).

Hasil perbandingan ion spektra massa dari sampel yang diuji dengan Wiley Library pada Spektrometri Massa dan data Library literatur menunjukkan ada kecocokan untuk senyawa propoksur pada ion fragmentasi 53, 81, 92, 110

dan 152. Hal ini menguatkan hasil pemeriksaan mode Full Scan dan mode SIM yang telah dilakukan.

4.1.2 Linieritas

Uji linieritas dilakukan untuk melihat hubungan linier antara konsentrasi dan puncak area. Hasil perhitungan menunjukkan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9984. Nilai koefisien korelasi yang mendekati positif 1 menunjukkan adanya korelasi positif antara kedua variabel sedangkan hasil koefisien determinan (R^2) = 0,9968 yang menunjukkan bahwa variabel X (konsentrasi larutan standar) mempengaruhi variabel Y (luas area) sebesar 99,68%.

4.1.3 LOD dan LOQ

Hasil perhitungan diperoleh nilai LOD sebesar 847.289,65 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan nilai LOQ sebesar 2.824.298,82 $\mu\text{g/mL}$. Nilai LOD berguna untuk mengetahui jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi oleh instrument sedangkan nilai LOQ menunjukkan jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih memenuhi kriteria presisi dan akurasi. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh konsentrasi terkecil analit dalam sampel yang dapat terdeteksi adalah 847.289,65 $\mu\text{g/mL}$ dan konsentrasi terkecil analit dalam sampel yang memenuhi kriteria presisi dan akurasi namun masih dapat dideteksi adalah 2.824.298,82 $\mu\text{g/mL}$.

4.1.4 Akurasi

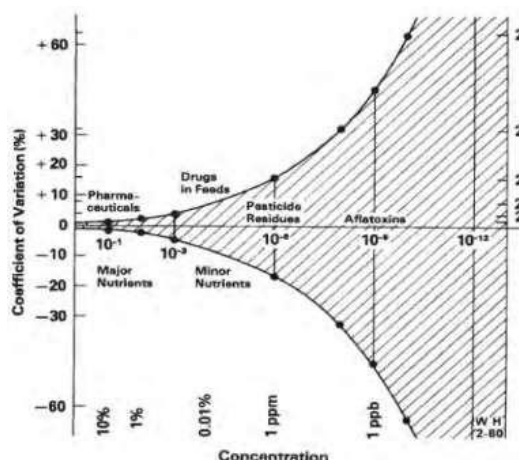
Hasil pengukuran pada konsentrasi 20, 30, dan 80 ppm dengan replikasi masing-masing sebanyak 3 kali didapatkan nilai % rekoverti sebesar 100,4%, 105,3% dan 107%. Berdasarkan AOAC syarat keberterimaan % rekoverti disesuaikan dengan konsentrasi yang digunakan seperti pada tabel 4.1 dibawah.

Tabel 4.1 Syarat keberterimaan % rekoverti disesuaikan konsentrasi sampel berdasar AOAC.

Konsentrasi	Batas Recovery
100 %	98-101 %
10 %	95-102 %
1 %	92-105 %
0.1 %	90-108 %
0.01 % (100 ppm)	85-110 %
10 ppm	80-115 %
10 ppb	70-125 %

4.1.5 Presisi

Hasil uji presisi dihitung berdasarkan nilai koefisien variasi. Tabel 4.2 menunjukkan hasil koefisien variasi dari masing-masing kadar standar yang digunakan. Kriteria seksama diberikan jika hasil %RSD atau koefisien variasi (CV) sebesar 2% atau kurang. Namun hal ini bersifat fleksibel, bergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel dan kondisi laboratorium. Menurut penelitian oleh Hortwitz dkk., dijumpai bahwa koefisien variasi meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis. Horwitz membuat sebuah kurva yang menghubungkan reproduksibilitas (presisi yang dinyatakan %KV) dengan konsentrasi analit seperti pada gambar 4.1 di bawah. Tabel 4.3 menunjukkan tingkat presisi berdasarkan Association of Analytical Communities (AOAC) disesuaikan juga dengan konsentrasi komponen dalam sampel berdasarkan AOAC (Riyanto, 2014).



Gambar 4.1 Kurva variansi Horwitz hubungan konsentrasi analit dengan KV (%)

Tabel 4.2 Nilai koefisien variasi masing-masing konsentrasi standar propoksur.

Kadar (ppm)	Replikasi	Kadar Perolehan	Rerata	%RSD
20	1	20,68	20,073	0,541
	2	19,9		
	3	19,64		
30	1	32,28	31,577	0,646
	2	31,44		
	3	31,01		
80	1	94,7	85,607	7,881
	2	81,36		
	3	80,76		

Tabel 4.3 Tingkat presisi disesuaikan dengan konsentrasi komponen sampel berdasarkan AOAC.

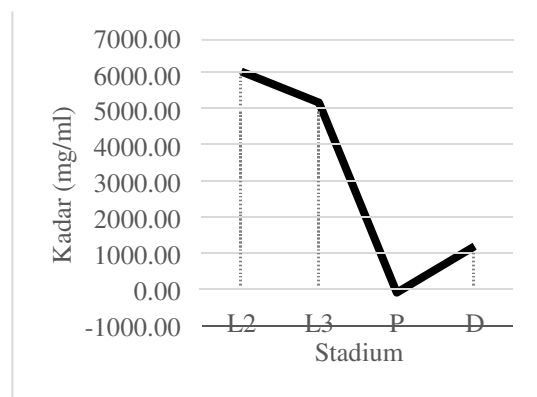
Konsentrasi	Presisi
100%	≤ 1 %
10%	≤ 1,5 %
1%	≤ 2 %
0.1 %	≤ 3 %
0.01 % (100 ppm)	≤ 4 %
10 ppm	≤ 6 %
10 ppb	≤ 15 %

Hasil koefisien variasi pada sampel yang dianalisis pada tabel 4.1 berdasarkan AOAC maka hanya konsentrasi 20 dan 30 ppm saja yang memenuhi syarat $\leq 4\%$. Adanya variasi pada hasil ini bisa disebabkan oleh kesalahan acak. Kesalahan acak dapat muncul pada penelitian disebabkan kesalahan dalam pengukuran karena gangguan dan perbedaan kondisi saat pengukuran.

4.2 Profil kadar propoksur LD50

Penelitian ini mengamati dan menganalisis perubahan kadar propoksur pada empat stadium metamorfosis larva lalat *Sarcophaga* sp. Setiap stadium diambil lima replikasi sehingga total sampel adalah dua puluh sampel. Dari hasil pengujian dengan alat KG-SM didapatkan konsentrasi atau kadar dari masing-masing sampel pada tiap stadium.

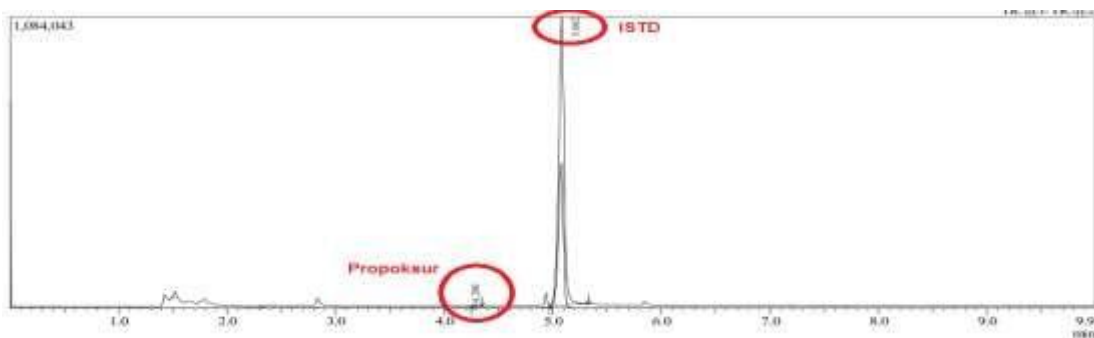
Hasil pengukuran kadar propoksur pada sampel larva lalat *Sarcophaga* sp. ini menunjukkan adanya kecenderungan menurun pada tiga stadium awal (instar II, instar III dan pupa), namun pada stadium dewasa terjadi lonjakan kadar seperti tampak pada gambar 4.2



Keterangan: *) L2, larva instar 2; L3, larva instar 3; P, pupae; D, dewasa.

Gambar 4.2 Profil Kadar Propoksur LD50 Rerata dengan Stadium

Hasil pada uji kromatogram menunjukkan bahwa propoksur dapat terdeteksi pada sampel dengan waktu retensi 4,280 menit dan dapat terpisah dengan ISTD carbosulfan yang memiliki waktu retensi 5,082 menit seperti tampak pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kromatogram pada sampel propoksur LD50.

Proses dekomposisi mayat ikut mempengaruhi sukseksi serangga selain faktor lingkungan. Pada fase bloating dimana gas-gas dalam tubuh hasil katabolisme substrak organik oleh bakteri anorganik mulai memenuhi rongga organ dalam mayat, hal ini memacu proses pembusukan lebih cepat. Gas amonia yang banyak mulai keluar dari tubuh menarik bagi serangga-serangga disekitarnya termasuk larva lalat *Sarcophaga* sp. Proses makan mulai terjadi sejak larva muda instar I dilahirkan. Pada tahap pembusukan selanjutnya proses kolonisasi larva mulai meningkat begitupun fase makannya. Larva lalat *Sarcophagidae* mulai membentuk fase instar II pada tahap ini. Menjelang akhir tahap pembusukan larva lalat *Sarcophaga* sp. memasuki akhir fase penyebaran atau sering disebut post-feeding phase dan bermigrasi untuk persiapan pupariasi. Setelah fase pembusukan lewat, sisa jaringan lunak mulai menipis sehingga larva lalat mulai kekurangan sumber makanan. Sisa larva yang ada akan mengering dengan cepat dan mati. Ketika jaringan lunak sudah habis dan hanya tersisa tulang, kartilago dan rambut, proses aktivitas dekomposisi oleh serangga telah berkakhir (Greenberg, 2014).

dimasukkan butuh waktu dari proses makan hingga larva lalat lahir. Pada hari ke-2 larva lalat

Fenomena pada penelitian ini adalah pada saat memasuki stadium lalat dewasa terjadi peningkatan kadar propoksur pada uji dengan metode KG-SM. Hal ini dapat disebabkan faktor lingkungan pada kandang yang tertutup rapat sehingga lalat dewasa tidak bisa terbang keluar dan akhirnya mencari makanan dari sisa jasad media tumbuh di dalamnya. Terlebih lalat *Sarcophaga* sp. tergolong lalat nekrofagus yang memakan bangkai sehingga saat sudah mencapai fase ini dia akan segera mencari sumber makanan untuk kebutuhan energi pertumbuhannya (Greenberg, 2014).

4.4 Pertumbuhan larva lalat *Sarcophaga* sp.

Prose pengamatan dan pengukuran pertumbuhan larva lalat *Sarcophaga* sp. yang telah dilakukan terhadap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, didapatkan data antropometri berupa panjang dan berat larva. Pemantauan dilakukan selama 10 hari, dimulai dari H-1 (24 jam pasca perlakuan) hingga H-10 saat sudah terbentuk lalat dewasa.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa adanya propoksur pada media tumbuh mempengaruhi panjang larva lalat *Sarcophaga* sp. secara signifikan. Pada hari ke-1 pengamatan belum dijumpai adanya larva lalat. Hal ini dapat dimengerti karena saat lalat dewasa baru

sudah mulai tampak dan bisa dilakukan pengukuran. Perbedaan yang tampak mencolok terjadi mulai hari ke-tiga dimana pada kelompok kontrol panjang larvanya sudah lebih dari 10 mm, sedangkan pada kelompok perlakuan panjang larvanya masih kurang dari 10 mm. Perubahan panjang larva mulai terjadi pada hari ke-6 dimana larva yang dikoleksi panjangnya mulai berkurang, terutama pada kelompok kontrol. Sedangkan pada kelompok perlakuan panjang larva lalatnya cenderung tidak banyak perbedaan. Pertumbuhan panjang larva dapat dilihat pada gambar 4.4.

Hasil pengukuran berat larva juga menunjukkan kelompok propoksur pada media tumbuh terdapat pengaruh yang signifikan. Pada hari ke-3 berat badan kelompok perlakuan mencapai berat tertinggi sebesar 5,9 mg, sedangkan kelompok kontrol mencapai berat tertinggi pada hari ke-4 sebesar 86,9 mg. Sejak stadium instar II atau pada hari ke-3 kelompok kontrol sudah terlihat mempunyai berat badan yang lebih dibandingkan kelompok perlakuan. Hal ini terjadi sampai stadium lalat dewasa. Pertumbuhan berat larva dapat dilihat pada gambar 4.5.

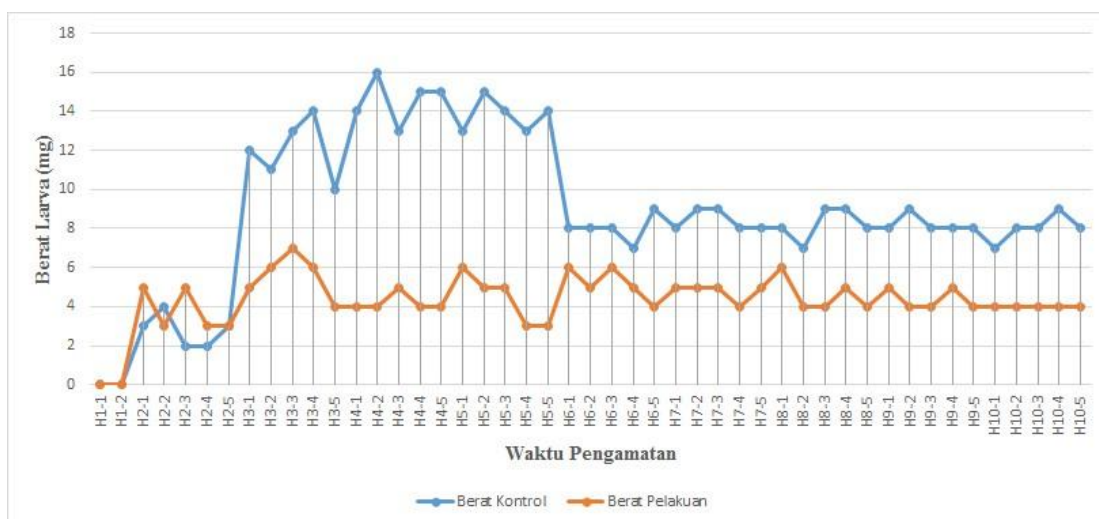
Proses perkembangan larva lalat selain faktor dekomposisi mayat juga dipengaruhi faktor

lingkungan dan zat-zat cemaran pada mayat, dalam penelitian ini propoksur dianggap sebagai cemaran yang mempengaruhi proses perkembangan larva. Penelitian oleh Goff et al. (1989), pada kelinci yang diberi kokain dosis lethal dan dua kali dosis lethal menunjukkan

pertumbuhan larva lalat *Boettcherisca peregrina* meningkat pesat hingga tahap post-feeding. Begitupun penelitian lain menggunakan Heroin oleh Goff et al. menunjukkan pertumbuhan larva lalat *Lucilia sericata* meningkat pesat, dan juga pada lalat jenis sarchopagid mengalami pembesaran berat badan (Greenberg, 2014).



Gambar 4.4 Diagram pengamatan panjang larva pada kelompok kontrol dan perlakuan.



Gambar 4.5 Diagram pengamatan berat larva pada kelompok kontrol dan perlakuan.

4.3 Pengaruh propoksur LD50 terhadap pertumbuhan larva lalat *Sarcophaga sp.*

Hasil uji anova satu arah pada panjang larva didapatkan nilai F yaitu 5,533 dan signifikansi 0,024, sedangkan hasil pada berat larva didapatkan nilai F yaitu 4,378 dan signifikansi 0,042. Artinya larva pada kelompok perlakuan propoksur LD50 pertumbuhan panjang dan berat badannya terpengaruh sangat nyata pada stadium instar II, instar III, pupa dan Dewasa.

Uji homogenitas pada kadar propoksur antar stadium dinyatakan tidak homogen sehingga diperlukan *multiple comparisons* antar masing-masing stadium larva lalat. Untuk hasil uji anova satu arah pada kadar propoksur didapatkan angka signifikansi sebesar 0,002, artinya ada perbedaan antara masing-masing stadium. Hasil *multiple*

comparisons antar stadium terlihat pada tabel 5.12, dimana terdapat perbedaan yang nyata jika stadium Dewasa dibandingkan dengan stadium instar II, instar III atau pupa.

Hasil uji anova satu arah memperlihatkan bahwa ada pengaruh signifikan propoksur LD50 pada kelompok perlakuan. Untuk melengkapi hasil penelitian maka dilakukan uji komparasi untuk menilai ada tidaknya perbedaan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada distribusi panjang dan berat badan larva yang telah diukur sebelumnya. Pengujian data ini menggunakan cara T-test Sampel Independen. Didapatkan nilai t-hitung yang didapatkan pada panjang larva sebesar 8,406 dan berat larva sebesar 6,457 lebih besar dari nilai t-tabel yakni 2,021. Hipotesis diterima, artinya panjang larva

antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan mempunyai perbedaan bermakna.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian analisis toksikologi forensik pada sampel larva lalat *Sarcophaga* sp. yang terpapar propoksur dosis LD50 didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil validasi metode diperoleh nilai regresi 0,998, nilai akurasi memenuhi standar AOAC 100,4-107,00%, nilai presisi diperoleh rerata RSD 3,023%, nilai didapat LOD 847.289,65 µg/mL dan LOQ sebesar 2.824.298,82 µg/mL.
2. Hasil profil kadar propoksur menunjukkan adanya kecenderungan menurun pada tiga stadium awal (instar II, instar III dan pupa), akan tetapi melonjak drastis pada stadium dewasa.
3. Analisis statistik dengan uji Anova satu arah menunjukkan adanya pengaruh kadar propoksur dosis LD50 terhadap pertumbuhan larva lalat *Sarcophaga* sp. yang signifikan.
4. Hasil analisis data pertumbuhan larva menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan propoksur dosis LD50.
5. Metode Kromatografi Gas-Spektrometri Massa dapat digunakan untuk uji toksikologi forensik pada kasus kematian akibat keracunan pestisida propoksur.

5.2 Saran

1. Proses penanganan sampel larva lalat dari mulai pengumpulan, pengukuran, pengestrasian, penyimpanan dan pengujian perlu dilakukan dengan lebih teliti dan berkesinambungan agar bisa meminimalisir hasil data yang bias.
2. Perlu penambahan jumlah sampel atau replikasi yang lebih banyak agar dapat mencegah munculnya data bias untuk penelitian-penelitian yang selanjutnya.
3. Metode dengan menggunakan KG-SM ini sangat layak untuk dikembangkan lebih jauh dalam proses identifikasi kasus keracunan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada para

pembimbing, penguji dan guru-guru saya yang telah banyak meluangkan waktu memberikan bimbingan dan arahan, serta semua pihak atas saran dan kritiknya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amendt, J., Goff, M. L., Campobasso, C. P., & Grassberger, M. (2010). *Current Concepts in Forensic Entomology*. London: Springer.
- Byrd, J. H., & Castner, J. L. (2010). *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Boca Raton: CRC Press.
- Eddleston, M., & Philips, M. (2004). Self Poisoning with Pesticides. *British Medical Journal*, 328, 42-44.
- Environmental Protecting Agency. (1992). *Propoxur: Risk Characterization Document*. California: EPA.
- Gennard, D. E. (2012). *Forensic Entomology: An Introduction (2nd Ed.)*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.
- Goff, M., & Lord, W. (2000). *Entomotoxicology: insects as toxicological indicators and the impact of drugs and toxins on insect development*. In J. H. Byrd, & J. L. Castner, *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations* [1 ed.] (pp. 331-340). Florida: CRC Press.
- Greenberg, B. (2014). *Insect succession on carrion under natural and artificial conditions*. In D. B. Rivers, & G. A. Dahlem (Eds.), *The Science of Forensic Entomology* (pp. 193-201). West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Harmita. (2009). *Analisis Fisikokimia: Kromatografi*. Jakarta: EGC.
- Harmita. (2009). *Analisis Fisikokimia: Potensiometri & Spektroskopi*. Jakarta: EGC.
- Idries, A. M. (1997). *Pedoman Ilmu Kedokteran Forensik*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Introna, F., Campobasso, C., & Goff, M. (2000). *Entomotoxicology*. In J. H. Byrd, & J. L. Castner, *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations* [1 ed.] (pp. 58-59). Florida: CRC Press.
- Levine, N. (1994). *Parasitologi Veteriner (2nd ed.)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Moffat, A. (2004). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons* (Third Edition ed.). London: Press.

Pardede, C. M. (2012). Karakteristik Penderita Percobaan Bunuh Diri dengan Racun di RSUD Dr. Pringadi Kota Medan Tahun 2006-2011. *Jurnal Gizi, Kesehatan Reproduksi dan Epidemiologi*, 1.

Riyanto. (2014). *Validasi & Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025*

Pharmaceutical

Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi (Pertama ed.). Yogyakarta: Deepublish.

Sharma, R. (2011). *Medico-legal Aspects of Death*. In R. Sharma, *Concise Textbook Of Forensic Medicine & Toxicology* (pp. 38-51). Uttar Pradesh: Global Education Consultan.