Studi Pendahuluan Analisis Antibiotik Golongan Tetrasiklin Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

[1]Hendi Ari Perdian, [2]Diar Herawati [3]Anggi Arumsari

[1]Prodi Farmasi F MIPA.Universitas Islam Bandung.
Jl.Tamansari No.1 Bandung 40116
e-mail:[1]Ari.Perdian21@gmail.com, [2]diarmunawar@gmail.com,
[3]anggiarumsari@yahoo.com

Abstrak. Telah dilakukan penelitian studi pendahuluan analisis antibiotik golongan tetrasiklin menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan sistem ; fase gerak metanol asam oksalat dan asetonitril (4:1), kolom Zorbax ® C-18 (250 x 4,6 mm), laju alir 1,2 ml/menit, detektor UV panjang gelombang 355 nm. Dilakukan pembuatan larutan standar tetrasiklin dengan menguji enam konsentrasi standar yaitu; 0,1; 0,3; 0,5; 1; 2 dan 3 ppm sehingga didapat persamaan regresi linear antara luas area terhadap konsentrasi standar tetrasiklin yaitu y = 5991957,221x + 845064,655 dengan r = 0,986. Adapun waktu retensi tetrasiklin didapat 2,173 menit dengan resolusi yang baik.

Kata Kunci : KCKT, Tetrasiklin, Antibiotik

A. Pendahuluan

Menurut definisi Waksman, antibiotika adalah zat yang dibentuk oleh mikroorganisme yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme lain. Definisi ini harus diperluas karena zat yang bersifat antibiotik dapat pula dibentuk oleh beberapa hewan dan tanaman tinggi. Sejak ditemukannya antibiotik oleh *Alexander Fleming* sampai saat ini sudah beribu-ribu antibiotik yang ditemukan, dan hanya sebagian kecil yang dapat dipakai untuk maksud terapeutik. Yang berguna hanyalah antibiotik yang mempunyai kadar hambatan minimum (KHM) *in vitro* lebih kecil dari kadar zat yang dapat dicapai dalam tubuh dan tidak toksik (Mutschler, 2006:634).

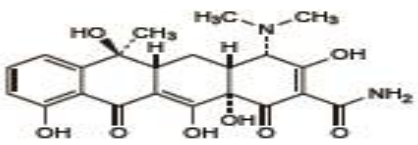
Mekanisme kerja Antibiotik

Mekanisme kerja antibiotik umumnya dapat dijelaskan secara terperinci;

1) Menghambat biosintesis dinding sel
2) Meninggikan permeabilitas membran sitoplasma
3) Mengganggu sintesis protein normal.

Umumnya, antibiotika yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membran sel bekerja pada sintesis bakterisid, sedangkan yang bekerja pada sintesis protein bekerja bakteriostatik (Mutschler,2006:634-635).

Struktur Tetrasiklin



Tetrasiklin adalah antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang menghambat sintesis protein. Tetrasiklin bekerja aktif terhadap banyak bakteri Gram positif dan Gram

negatif, termasuk bakteri anaerob, riketsia, klamidia, mikoplasma, dan bentuk L, dan terhadap beberapa protozoa, misalnya amoeba.

Antibiotik golongan tetrasiklin yang pertama ditemukan ialah klortetrasiklin yang dihasilkan oleh *Streptomyces aurereofaciens.* Tetrasiklin sendiri dibuat secara semisintetik dari klortetrasiklin tetapi juga diperoleh dari spesies *Steptomyces* lain, tetrasiklin bekerja baik pada mikroba ekstrasel maupun intrasel, tipe kerjanya bakteriostatik. Mekanisme kerjanya yaitu hambatan pada sintesis protein ribosom dengan menghambat pemasukan aminoasil t-RNA pada fase pemanjangan yang termasuk fase translasi ini akan menyebabkan *blockade* perpanjangan rantai peptida (Mutschler, 2006:650-651).

Tinjauan Alat

KCKT

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi atau KCKT atau biasa juga disebut dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dikembangkan pada akhir tahun 1960-an dan awal tahun 1970-an. Saat ini, KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang antara lain; farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri-industri makanan. Beberapa perkembangan KCKT terbaru antara lain; miniaturisasi sistem KCKT, penggunaan KCKT untuk analisis asam nukleat, analisis protein, analisis karbohidrat, dan analisis senyawa -senyawa kiral (Golib dan Rahman, 2011:378).

Kegunaan

Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis, analisis ketidakmurnian (*impurities*), analisis senyawa-senyawa tidak mudah menguap (non- volatil , penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun zwiter ion, isolasi dan pemurnian senyawa, pemisahan senyawa-senyawa yang strukturnya hampir sama, pemisahan senyawa-senyawa dalam jumlah sekelumit (*trace elements*), dalam jumlah banyak, dan dalam skala proses industri. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif (Golib dan Rahman, 2011:378).

KCKT paling sering digunkana untuk menetapkan kadar senyawa- senyawa tertentu seperti asam amino, asam nukleat, dan protein dalam cairan fisiologis, menentukan kadar senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk degradasi dalam sediaan farmasi, monitor sampel-sampel yang berasal dari lingkungan, memurnikan senyawa dalam suatu campuran, memisahkan polimer dan menentukan distribusi berat molekulnya dalam suatu campuran, kontrol kualitas, dan mengikuti jalannya reaksi sintesis (Golib dan Rahman, 2011:378).

B. Landasan Teori

Di Indonesia peternakan merupakan salah satu komoditas dasar untuk memenuhi kebutuhan gizi maupun kesehatan pada manusia, diantaranya peternak ayam yang selalu menyuplai ayam ke pasar-pasar, baik pasar tradisional maupun pasar swalayan Daging ayam merupakan sumber protein hewani yang secara ekonomi terjangkau dan merupakan produk yang paling banyak di konsumsi masyarakat Indonesia. Dikota Bandung jumlah produksi setiap tahunnya selalu meningkat karena kebutuhan masyarakat akan daging ayam tersebut. Berdasarkan data BPS kota Bandung banyaknya produksi daging ayam pada tahun 2010 yaitu 1,59 x 10^6 kg dan pada tahun 2011 yaitu 17,0 x 10^6 kg.

Daging ayam yang beredar di kota Bandung sebagian besar berasal dari ayam pedaging. Ayam pedaging mampu tumbuh cepat sehingga dapat menghasilkan daging dalam waktu relatif singkat, yaitu 5-7 minggu. Ayam pedaging memiliki peran penting sebagai sumber protein hewani asal ternak (Resnawati, 2005:714-748), Penambahan antibiotik ke dalam pakan ternak bertujuan untuk meningkatkan laju pertumbuhan berat badan atau memperbaiki laju efisiensi pakan Penggunaan obat-obatan tersebut meningkat tajam, khususnya pada sapi potong dan ayam pedaging untuk mempercepat laju pertumbuhan bobot badan (Sinaga, 2004).

Salah satu antibiotik yang banyak digunakan adalah golongan tetrasiklin untuk menghambat sintesis protein bakteri. Penggunaan antibiotik tersebut harus sesuai dengan aturan karena bila menyalahi aturan akan menimbulkan residu pada produk ternak. Residu antibiotik dapat menimbulkan bahaya pada manusia yang mengkonsumsinya, seperti alergi, keracunan, gagalnya pengobatan akibat resistensi, dan gangguan jumlah mikroflora dalam saluran pencernaan (Murdiati, 1997).

Pemberian antibiotika pada hewan dalam peternakan skala besar umumnya diberikan melalui air minum dan dapat diikuti dengan pemberian antibiotika melalui pakan. Umumnya pemberian antibiotika yang diberikan pada ayam lebih banyak diberikan secara massal dibandingkan pemberian secara individual. Hal ini dilakukan untuk membuat hewan tetap produktif meskipun mereka hidup dalam kondisi berdesakan dan tidak higienis (Martaleni, 2007).

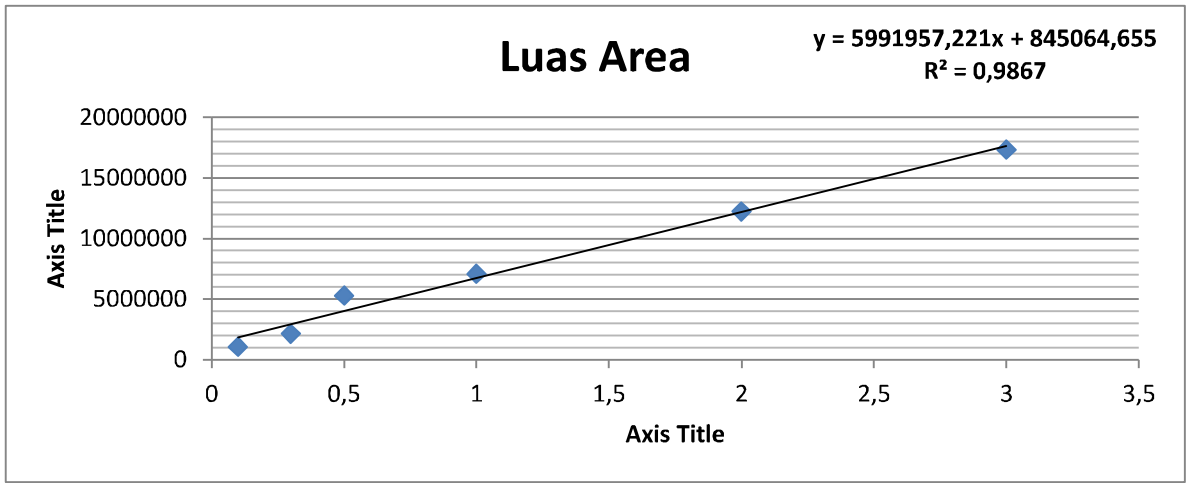
Pemberian antibiotika pada hewan dalam peternakan skala besar umumnya diberikan melalui air minum dan dapat diikuti dengan pemberian antibiotika melalui pakan. Umumnya pemberian antibiotika yang diberikan pada ayam lebih banyak diberikan secara massal dibandingkan pemberian secara individual. Hal ini dilakukan untuk membuat hewan tetap produktif meskipun mereka hidup dalam kondisi berdesakan dan tidak higienis (Martaleni, 2007).

Hampir semua pabrik pakan menambahkan "obat hewan" berupa antibiotika ke dalam pakan komersial, sehingga sebagian besar pakan komersial yang beredar di Indonesia mengandung antibiotika. Apabila peternak yang menggunakan pakan tersebut tidak memperhatikan aturan pemakaiannya, diduga kuat produk ternak mengandung residu antibiotika yang dapat mengganggu kesehatan manusia, antara lain berupa resistensi terhadap antibiotika tertentu, reaksi alergi dan kemungkinan keracunan (Yuningsih, 2004).

Dari uraian diatas rumusan masalah dari peneltian ini adalah bahwa, apakah tetrasiklin dapat dideteksi dengan KCKT dan fase gerak apa yang cocok untuk edentifikasi tetrasiklin dengan metode KCKT ?

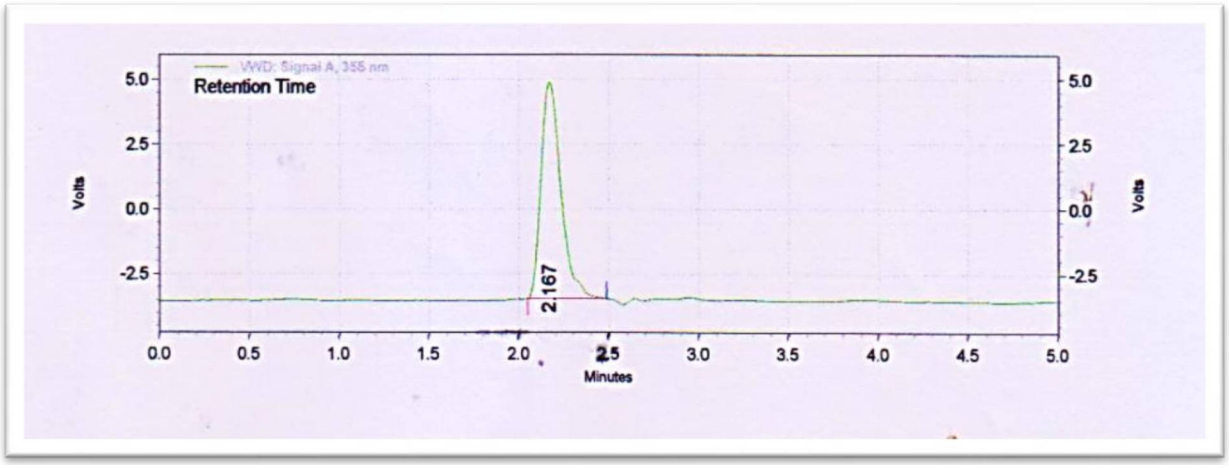
C. Hasil Penelitian

Hasil penelitian studi pendahuluan analisis antibiotik golongan tetrasiklin dengan menggunakan KCKT Agilent Technologies, 1220 infinity LC dengan fase gerak metanol asam oksalat dan asetonitril, berdasarkan hasil dari orientasi fase gerak dengan perbandingan yang berbeda beda didapatkan hasil perbandingan antara 4 : 1 dengan laju alir 1,2/ml, kemudian dibuat Larutan standar dengan melarutkan standar tetrasiklin sebanyak 10 mg dalam metanol 100 ml dari larutan standar tersebut lalu dibuat larutan baku dengan konsentrasi 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 1 ; 2 ; 3 ppm, masing-masing larutan baku diinjeksikan ke HPLC lalu dibuat kurva baku kadar obat dengan luas area. Persamaan regresi linear yang didapat adalah y = 5991957,221x + 845064,655.dengan r = 0,986, seperti pada gambar dibawah ini :

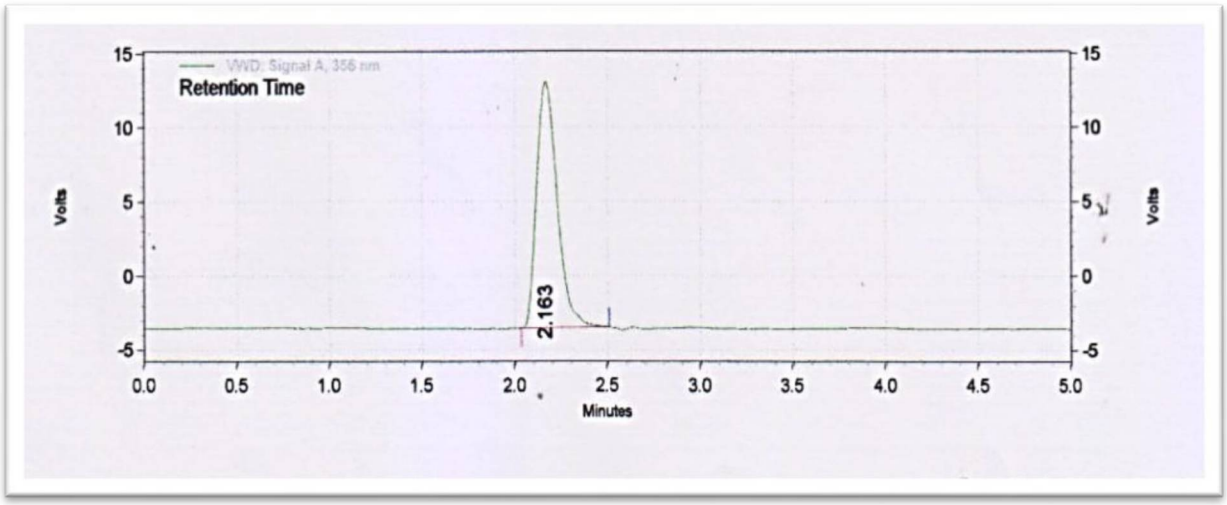


Gambar.C.1.kurva kalibrasi antara tetrasiklin dengan luas Area

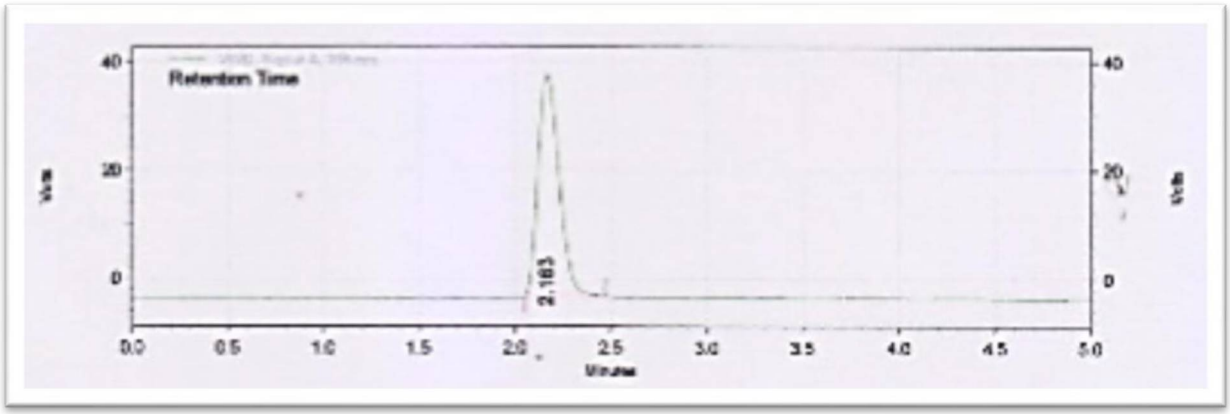
Masing-masing konsentrasi standar baku didapatkan hasil sebagai berikut :



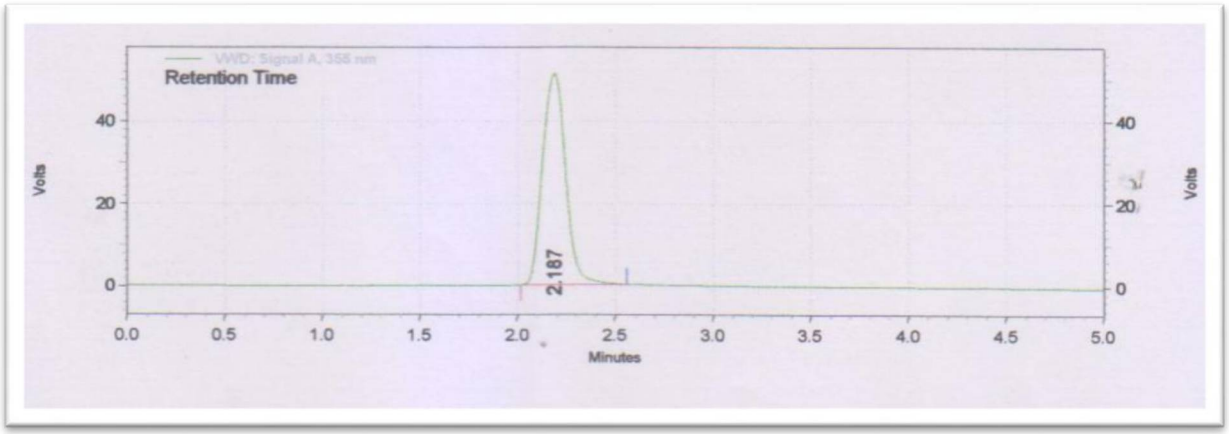
Gambar.C.2.Standar 0,1 ppm = 2,167



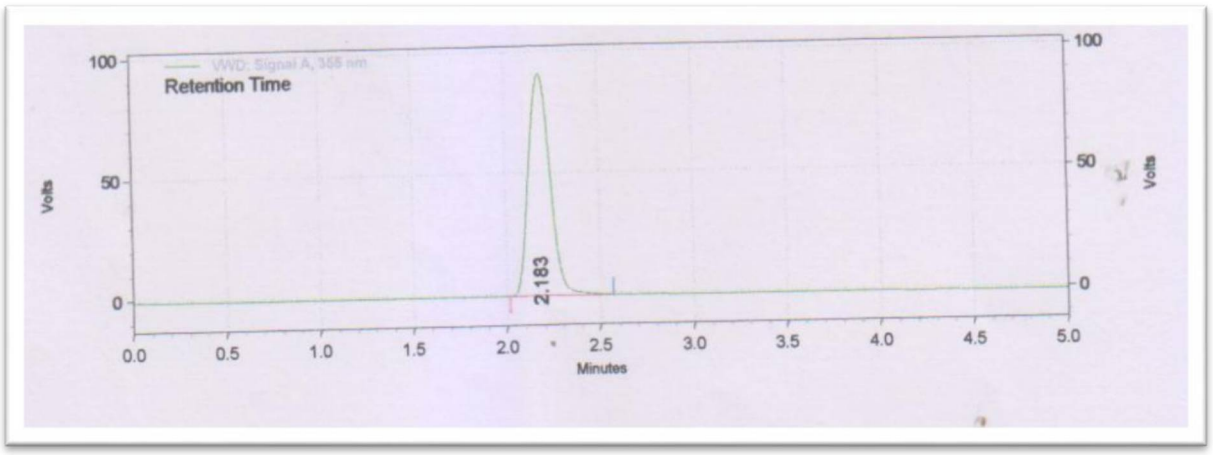
Gambar.C.3.Standar 0,3 ppm = 2,163



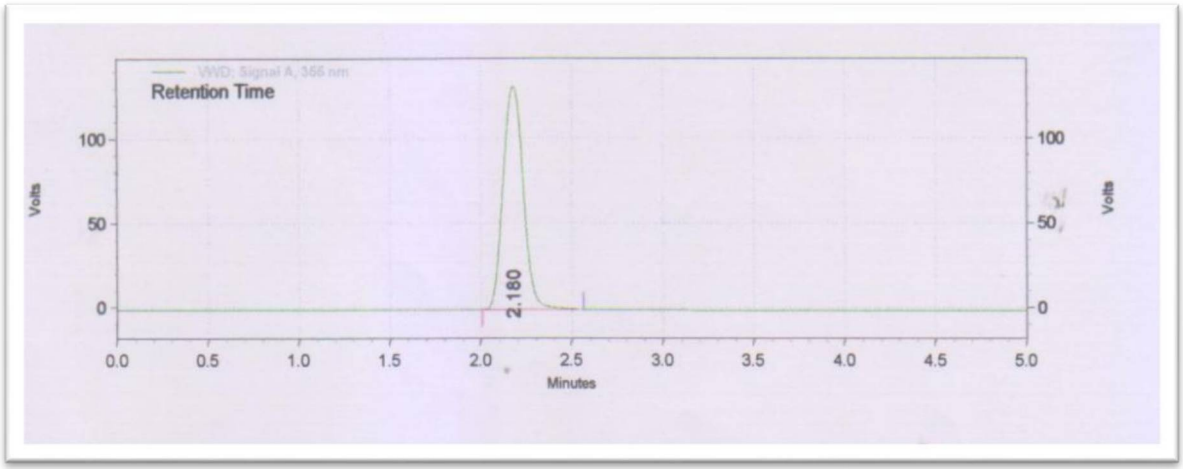
Gambar.C.4.Standar 0,5 ppm = 2,163



Gambar.C.5.Standar 1 ppm = 2,187



Gambar.C.6.Standar 2 ppm = 2,183



Gambar.C.7.Standar 3 ppm = 2,180

D. Kesimpulan

Dari gambar keenam sampel yang di injekan kedalam KCKT dapat dilihat bahwa area pada gambar memiliki area yang baik, dengan fase gerak metanol, asam oksalat dan asetontril dengan perbandingan (4 : 1) dapat mendeteksi tetrasiklin dengan panjang gelombang 355 nm, laju alir 1,2 / ml, dengan retensi waktu pada 0,1, 0,3, 0,5, 1,2,dan 3 ppm adalah 2,167, 2,163,2,163, 2,187,2,183 dan 2,180. Hal ini membuktikan bahwa tetrasiklin bisa dideteksi menggunkan KCKT dengan fase gerak metanol, asam oksalat, dan asetonitril dengan perbndingan 4 : 1.

Daftar Pustaka

Mutschler,Ernst. *Dinamika Obat edisi 5*. Bandung. ITB, 2006.

Golib, Ibnu dan Rahman Abdul. *Kimia Farmasi Analisis*. Jakarta: Pustaka Pelajar,2011.

Sinaga, S.M.2004. *Perspektif pengawasan makanan dalam kerangka keamanan makanan dan untuk meningkatkan kesehatan*. Http:// digilib. Usu.ac.id/ artikel/sinaga.pdf.

Murdiati, T.B. 1997. *Pemakaian antibiotik dalam usaha perternakan*. Wartazoa 6 : 18 – 21.

Yuningsih. 2004. *Keberadaan residu antibiotika dalam produk peternakan (susu dan daging).* Di Dalam: Lokakarya Nasional Keamanan Pangan Produk Peternakan. Bogor: Balai Penelitian Veteriner. Hlm 48-55.