

Pengembangan Metode Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Residu Antibiotik Tetrasiklin dalam Sarang Lebah dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kcct)

¹Rizqia Nafisa, ²Nety Kurniaty, ³Diar Herawati

^{1,2,3}ProdiFarmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116

e-mail: ¹rizqianafisa18@gmail.com, ²netykurniaty@yahoo.com,

³diarmunawar@gmail.com

Abstrak: Telah dilakukan penelitian mengenai residu antibiotik tetrasiklin dalam sarang lebah dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan detektor UV dengan panjang gelombang 355 nm, kolom Zorbax[®] ODS (250 x 4,6 mm), fase gerak metanol : campuran pelarut (asam oksalat 0,0025 M-asetonitril, 4:1) dengan perbandingan 90:10 dengan laju alir 1 ml/menit. Sarang lebah dipreparasi menggunakan asam trikloroasetat (TCA) dan buffer sitrat pH 4 lalu disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit, kemudian dilakukan Ekstraksi Cair-Cair (ECC) dan *Solid Phase Extraction* (SPE). Dari kedua sampel yang digunakan, menunjukkan bahwa sampel a (spesies *Apis cerana*) dan sampel b (spesies *Trigona sp*) tidak mengandung tetrasiklin. Hasil validasi menunjukkan bahwa kurva kalibrasi menghasilkan linieritas yang baik ($r^2 = 0,996$). Akurasi berada pada rentang 55,12- 96,22%. Presisi yang dihasilkan dibawah 16%. Batas deteksi 0,0657 ppm dan batas kuantisasi 0,2192 ppm.

Kata kunci: Sarang lebah, tetrasiklin, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

A. Pendahuluan

Sarang lebah menghasilkan berbagai produk lebah yang sangat bermanfaat dan banyak diminati oleh masyarakat. Tingginya minat akan produk yang dihasilkan lebah ini membuat banyak orang mencoba peruntungan dengan membuat pembudidayaan lebah. Untuk menghasilkan produk yang baik, memenuhi persyaratan mutu, dan menghasilkan keuntungan yang besar maka sarang lebah harus dijaga kebersihannya, adanya bakteri yang menyerang sarang lebah akan membuat sarang lebah rusak sehingga menurunkan nilai produksi. Oleh karena itu, ada beberapa peternak yang mensiasati agar sarang lebah terbebas dari pengganggu terutama serangan bakteri. Untuk mencegah serangan bakteri para peternak tersebut menyemprotkan antibiotik tetrasiklin, karena mereka beranggapan bahwa antibiotik tetrasiklin dapat mencegah timbulnya bakteri dengan aktivitas yang tinggi dan biaya produksi yang rendah. Keberadaan residu antibiotik tetrasiklin bukan hanya disebabkan oleh penggunaan antibiotik oleh beberapa peternak, kemungkinan lain residu antibiotik tetrasiklin dapat masuk dari lingkungan akibat penggunaan antibiotik yang kurang tepat.

Menurut hasil penelitian Diah Nurfitasari di dalam skripsinya yang berjudul "Analisis Residu Antibiotika Tetrasiklin pada Madu yang Beredar di Wilayah Bandung dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)" ditemukan adanya residu antibiotika tetrasiklin pada madu (Nurfitasari, 2013). Disebutkan pula di dalam jurnal yang ditulis oleh Pilar Vinas, dkk, yang berjudul "*Liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the analysis of tetracycline residues in honey*" bahwa adanya tetrasiklin di dalam madu adalah ilegal di tingkat manapun (Vinas, dkk, 2003).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka rumusan permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ada kandungan residu antibiotik tetrasiklin pada sarang lebah?

2. Apabila ada, berapa kadar residu antibiotik tetrasiklin pada sarang lebah?
3. Apakah metode yang digunakan memberikan hasil yang akurat?

Apabila residu antibiotik tetrasiklin ini tertinggal di dalam sarang lebah, maka cemaran tetrasiklin ini beresiko menimbulkan bahaya resistensi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui dan menganalisis kadar residu antibiotik tetrasiklin pada sarang lebah yang digunakan sebagai pembudidayaan, serta menentukan metode yang sesuai untuk mendapatkan hasil yang akurat.

B. Landasan Teori

Lebah menghasilkan berbagai produk, diantaranya adalah madu, *royal jelly*, serbuk sari (*bee pollen*), propolis, lilin lebah (*malam/beeswax*), racun lebah (*bee venom*). Beberapa penyakit yang menyerang sarang lebah, diantaranya adalah sebagai berikut:

1. *American Foul Brood* (AFB)

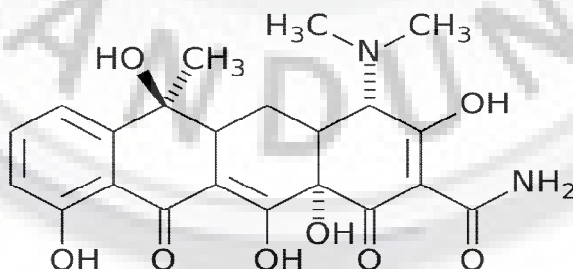
American Foul Brood (AFB) disebabkan oleh *Bacillus larvae*. Gejala serangan dikenali dari pembukaan sel yang tidak merata dan sel tertutup yang berlubang-lubang. Larva yang busuk berbau menyengat.

2. *Eropean Foul Brood* (EFB)

Eropean Foul Brood (EFB) disebabkan oleh bakteri *Melligococcus pluto*. Pembusukan larva mempunyai gejala seperti AFB, tetapi tidak menimbulkan bau yang menyengat dan tidak terentang bila diambil dengan tongkat penjepit (Mace, 1984).

Antibiotik adalah (pada mulanya) zat yang dibentuk oleh mikroorganisme yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme lain (Mutshler.E, 1999:634).

Tetrasiklin merupakan antibiotik spektrum luas yang diisolasi dari berbagai jenis streptomyces. Tetrasiklin bekerja baik pada mikroba ektrasel maupun intrasel. Tipe kerjanya adalah bakteriostatik. Mekanisme kerjanya yaitu menghambat sintesis protein ribosom yaitu dengan cara menghambat pemasukan aminoasil t-RNA pada fase pemanjangan yang termasuk fase translasi, hal ini menyebabkan blokade perpanjangan rantai peptida (Mutshler.E, 1999:649). Struktur kimia dari tetrasiklin adalah sebagai berikut:



Gambar I.1. Struktur Tetrasiklin

Resistensi didefinisikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya. Resistensi terjadi ketika bakteri berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau bahan lainnya yang digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi. Bakteri yang mampu

bertahan hidup dan berkembang biak, menimbulkan lebih banyak bahaya. Kepekaan bakteri terhadap kuman ditentukan oleh kadar hambat minimal yang dapat menghentikan perkembangan bakteri. Residu antibiotik bila termakan konsumen dapat menimbulkan reaksi alergi dan keracunan serta perkembangan kuman yang resisten terhadap antibiotik (Kusumaningsih, dkk., 1996:260-267).

Dalam penelitian ini digunakan beberapa teknik pemisahan diantaranya sebagai berikut:

1. Sentrifugasi

Sentrifugasi adalah metode sedimentasi untuk memisahkan partikel-partikel dari suatu fluida berdasarkan berat jenisnya dengan memberikan gaya sentripetal (Robinson, 1975). Sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan sel menjadi organel-organel utama sehingga fungsinya dapat diketahui. Prinsipnya yakni dengan meletakkan sampel pada suatu gaya dengan memutar sampel pada kecepatan tinggi, sehingga terjadi pengendapan partikel, atau organel-organel sel berdasarkan bobot molekulnya. Substansi yang lebih berat akan berada di dasar (pelet), sedangkan substansi yang lebih ringan akan terletak di atas (supernatan) (Miller, 2000).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik memisahkan analit dari komponen matriks yang mengganggu di dalam suatu analisis (Satiadarma, dkk., 2004:183).

a. Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair merupakan suatu teknik dimana suatu larutan (biasanya dalam air) dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik) yang pada hakekatnya tak tercampurkan sehingga menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (solut) kedalam pelarut kedua. Suatu zat akan lebih tertarik oleh zat yang memiliki kepolaran yang sama dengannya, dengan kata lain pemisahan terjadi berdasarkan kepolaran suatu zat (Basset, dkk., 1994 :165).

b. Ekstraksi Padat Cair

Ekstraksi padat cair atau SPE (*Solid Phase Extraction*) digunakan untuk senyawa yang sukar larut dalam air, tetapi dapat dilarutkan dengan pelarut organik yang tidak membutuhkan matriks. Parameter SPE adalah kelarutan zat dalam pelarut. (Satiadarma, dkk., 2004:183).

3. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan suatu teknik pemisahan hasil antaraksi spesifik antara molekul senyawa dengan fase diam dan fase gerak. Prinsip KCKT adalah memisahkan komponen campuran senyawa kimia terlarut dengan sistem adsorpsi pada fase diam padat atau sistem partisi di antara fase diam cair yang terikat pada penyangga padat, dan fase gerak cair (Satiadarma, dkk., 2004:201).

Validasi metode analisis yang dilakukan pada penelitian ini, adalah sebagai berikut:

1. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x) (Rohman, 2009).

2. Akurasi

Akurasi merupakan kedekatan antara nilai terukur (nilai rata-rata hasil analisis) dengan nilai yang diterima sebagai nilai sebenarnya, baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, ataupun nilai rujukan (Swartz, 1997).

$$\% \text{ Perolehan kembali} = \frac{\text{konsentrasi hasil}}{\text{konsentrasi standar}} \times 100 \% \dots \dots \dots (1)$$

3. Presisi

Presisi merupakan ukuran kedekatan antar serangkaian hasil analisis yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel homogen yang sama (Swartz, 1997).

$$SD = \frac{\sqrt{\sum(x-\bar{x})^2}}{n-1} \dots\dots\dots(2)$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3)$$

Dimana :

RSD = Standar Deviasi Relatif (%)

SD = Standar Deviasi

\bar{X} = X rata-rata

4. Batas deteksi (LOD) dan batas kuantisasi (LOQ)

Batas deteksi (LOD) di definisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantisasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu. Batas deteksi merupakan banyaknya sampel yang menunjukkan respon (S) 3 kali terhadap derau (N) atau $LOD=3 S/N$. Sedangkan batas kuantifikasi (LOQ) didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (Swartz, 1997).

$$S_{y/x} = \frac{\sqrt{\sum(y-\bar{y})^2}}{n-2} \dots\dots\dots(4)$$

$$LOD = \frac{3 \times S_{y/x}}{b \text{ (slope)}} \dots\dots\dots(5)$$

$$LOQ = \frac{10 \times S_{y/x}}{b \text{ (slope)}} \dots\dots\dots(6)$$

C. Metodologi penelitian

Penelitian ini diawali dengan pengumpulan sampel sarang lebah, sampel yang digunakan adalah sarang lebah yang berasal dari lebah dengan spesies *Trigona sp*, pembudidayaan di Kampung Cibeusi, Desa Palasari, Ciater, Subang dan lebah dengan spesies *Apis cerana*, pembudidayaan di Kampung Cikendung, Cipunagara, Subang.

Sampel sarang lebah ditambahkan 20 ml buffer sitrat dan 2 ml asam trikloroasetat (TCA), kemudian diaduk dan dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Diambil bagian supernatan dari hasil sentrifugasi, kemudian dilakukan ekstraksi cair-cair dengan menggunakan n-heksana sebanyak 30 ml selama 5 menit yang dilakukan sebanyak 3 kali. Kemudian dilakukan *Solid Phase Extraction* (SPE), dengan menggunakan kolom C-18, hasil elusidipipet 1 ml dimasukan ke dalam labu ukur 10 ml lalu diencerkan dengan larutan metanol hingga tanda batas. Sampel kemudian disaring menggunakan membran filter dengan ukuran 0,45 μm untuk dianalisis dengan KCKT.

Untuk analisis kualitatif dan kuantitatif residu tetrasiklin, digunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan kolom ODS dan detektor UV pada panjang gelombang 355 nm. Dilakukan pula validasi metode analisis uji meliputi, akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi (LOD), dan batas kuantisasi (LOQ). Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Penelitian menggunakan 2 sampel sarang lebah dari spesies yang berbeda dan tempat pembudidayaan yang berbeda. Sarang lebah pertama dengan spesies *Trigona sp*, pembudidayaan di Kampung Cibeusi, Desa Palasari, Ciater, Subang, merupakan sarang lebah yang dibudidayakan di daerah hutan yang jauh dari pemukiman. Sedangkan sarang lebah kedua dengan spesies *Apis cerana*, pembudidayaan di Kampung Cikendung, Cipunagara, Subang, merupakan sarang lebah yang dibudidayakan di daerah pemukiman penduduk setempat. Tujuan digunakan kedua sampel sarang lebah dari spesies yang berbeda dan tempat pembudidayaan yang berbeda ini selain untuk mengetahui keberadaan tetrasiklin di dalam sarang lebah, digunakan juga sebagai perbandingan. Sampel yang digunakan masing-masing 5 gram dari tiap spesies dan harus selalu dalam keadaan segar.

1. Terlebih dahulu dilakukan uji kesesuaian sistem. Tujuan dari uji kesesuaian sistem adalah memastikan alat yang digunakan beroperasi dengan benar, dengan syarat nilai % RSD <2 %.

Dari pengujian diperoleh data sebagai berikut :

Tabel.1 Hasil perolehan uji kesesuaian sistem

No	Waktu Retensi	Luas Area
1	2,070	3537425
2	2,070	3527865
3	2,073	3543147
4	2,067	3528328
5	2,067	3493558
6	2,070	3541368
7	2,070	3570023
Rata-rata	2,070	3534530,571
SD	0,002	22915,558
% RSD	0,100	0,648

Hasil dari perhitungan nilai % RSD dalam penelitian ini adalah 0,648 %, hal ini menunjukkan sistem alat yang bekerja memenuhi syarat.

Sebelum dianalisis terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel sarang lebah dengan cara sentrifugasi, ekstraksi cair-cair (ECC) dan *solid phase extraction* (SPE), tujuan dilakukan ekstraksi untuk memisahkan analit dari komponen matriks yang mengganggu.

Sampel ditambahkan 20 ml buffer sitrat dan 2 ml asam trikloroasetat (TCA), kemudian diaduk dan dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Penggunaan buffer sitrat bertujuan untuk mempertahankan tetrasiklin agar tidak rusak dan tetap stabil, selain itu sebagai agen pengkhelet agar mencegah senyawa logam untuk terikat pada bagian adsorpsi dalam SPE sehingga meningkatkan efisiensi kemurnian tetrasiklin. Sedangkan TCA digunakan untuk pemisahan protein dengan mekanisme pemutusan jembatan garam pada protein dan ikatan hidrogen di dalam sarang lebah agar terjadi deproteinasi. Setelah sampel digabung dengan buffer sitrat dan

TCA, dilakukan pengadukan selama 1 menit agar semua teraduk rata, kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan senyawa tetrasiklin dari matriksnya. Prinsipnya yakni dengan meletakkan sampel pada suatu gaya dengan memutar sampel pada kecepatan tinggi, sehingga terjadi pengendapan partikel, atau organel-organel sel berdasarkan bobot molekulnya. Substansi yang lebih berat akan berada di dasar (pelet), sedangkan substansi yang lebih ringan akan terletak di atas (supernatan). Bagian supernatan diambil untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi cair-cair (ECC).

Ekstraksi cair-cair dilakukan dengan menggunakan n-heksana sebanyak 30 ml selama 5 menit yang dilakukan sebanyak 3 kali. Tujuan dilakukan ECC sebanyak 3 kali, agar filtrat yang dihasilkan lebih murni. Prinsip dari ECC adalah suatu zat akan tertarik dengan zat yang memiliki kepolaran yang sama, dimana tetrasiklin merupakan zat yang memiliki sifat semipolar sedangkan n-heksana merupakan zat dengan sifat nonpolar. n-heksana digunakan dengan tujuan menarik komponen nonpolar yang ada di dalam sampel agar terjadi perpisahan komponen antar dua cairan yang tidak saling bercampur. Terdapat 2 bagian hasil dari ECC yaitu bagian atas dan bagian bawah. Bagian atas merupakan n-heksana dan bagian bawah adalah bagian campuran buffer sitrat pH 4. Bagian bawah menunjukkan bagian dengan berat jenis yang lebih besar, n-heksana memiliki berat jenis yang lebih kecil dibandingkan berat jenis buffer. Bagian yang diambil adalah bagian bawah karena senyawa tetrasiklin berada dalam campuran buffer sitrat pH 4. Tetrasiklin merupakan senyawa semipolar yang stabil di dalam larutan asam.

Setelah dilakukan ekstraksi cair-cair kemudian dilakukan *Solid Phase Extraction* (SPE), dengan menggunakan kolom C-18, tujuan dilakukan ekstraksi padat cair/ (SPE) adalah untuk memisahkan pengganggu dari analit yang tidak terpisahkan pada ekstraksi cair-cair. Kolom SPE sebelumnya diaktifkan terlebih dahulu dengan menggunakan 10 ml metanol dan 10 ml aquabides. Tahap ini disebut dengan tahap pengkondisian, tujuannya adalah untuk membuat nilai pH yang sama pada penjerap. Setelah itu dimasukkan sebanyak 10 ml sampel ke dalam kolom SPE, tahapan ini disebut dengan tahap retensi, pada tahap ini sampel dialirkan pada kolom dengan tujuan menahan analit yang diinginkan sehingga senyawa pengotor terelusi terlebih dahulu. Selanjutnya kolom dicuci dengan 5 ml air yang mengandung 5% metanol (v/v). Tahap ini disebut dengan tahap pencucian, tujuannya adalah membilas atau menghilangkan komponen yang tidak tertahan oleh kolom pada tahap retensi, serta meminimalisasi terdapatnya analit yang diinginkan ikut terbilas. Terakhir adalah tahap elusi, dimana analit dielusi dengan 10 ml metanol oksalat. Hasil elusidipipet 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml lalu diencerkan dengan larutan metanol hingga tanda batas.

Eluat yang dihasilkan dari metode SPE dan telah diencerkan selanjutnya disaring menggunakan membran filter dengan ukuran 0,45 μm untuk dianalisis dengan KCKT. Sistem yang digunakan adalah sistem fasa terbalik dimana fase gerak bersifat lebih polar daripada fase diam. Fase gerak berupa metanol : campuran pelarut (asam oksalat 0,0025 M-asetonitril, 4:1) dengan perbandingan 90:10 dan fase diam ODS. Digunakan KCKT karena KCKT dapat memisahkan analit dari sampel dengan sensitifitas dan selektifitas yang tinggi.

Hasil analisis tetrasiklin dalam sarang lebah adalah sebagai berikut:

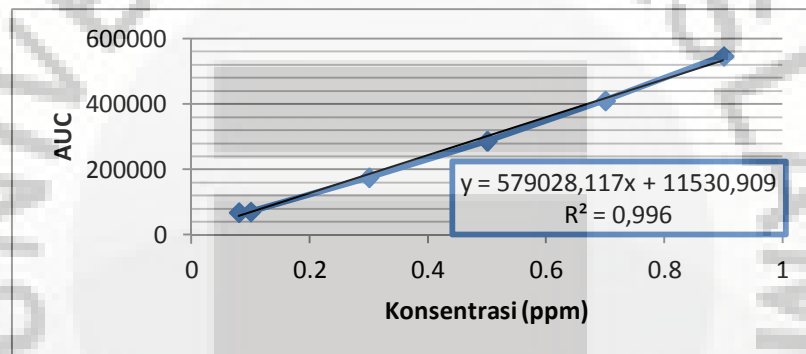
Tabel.2 Hasil identifikasi tetrasiklin dalam sampel

Nama	Waktu Retensi	Luas Area
Standar	2,093	6326212
Sampel a (spesies <i>Apis cerana</i>)	2,037	314427
Sampel b (spesies <i>Trigona sp</i>)	2,033	152178

Dari tabel hasil analisis tetrasiklin dalam sampel sarang lebah dilihat dari waktu retensi yang dihasilkan sampel dibandingkan dengan waktu retensi standar baku tetrasiklin dapat disimpulkan bahwa kedua sampel yang digunakan tidak mengandung tetrasiklin (hasil negatif). Kemudian setelah dilakukan pengecekan menggunakan baku tinambah pada sampel, puncak yang dihasilkan tidak mengalami peningkatan. Hal ini membuktikan bahwa sampel tidak mengandung tetrasiklin. Sehingga kadar sampel tidak dapat ditentukan.

Hasil validasi analisis yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Linieritas



Gambar.1 Kurva Kalibrasi

Dari kurva kalibrasi, didapat persamaan regresi linier $y = 579028,117x + 11530,909$ dan nilai r^2 yang diperoleh 0,996. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa pengujian linieritas ini memenuhi persyaratan karena nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1.

2. Akurasi

Tabel.3 Data perhitungan akurasi

No.	C (Baku pembanding)	Luas Area	C (Hasil)	% Perolehan kembali
1	0,5	215175	0,352	70,40
2	0,5	207349	0,338	67,60
3	0,5	211484	0,345	69,00
			Rata-rata	69,00
4	0,8	274851	0,455	56,87
5	0,8	273073	0,452	56,50
6	0,8	267134	0,441	55,12
			Rata-rata	56,16
7	0,9	505074	0,852	94,66
8	0,9	512990	0,866	96,22
9	0,9	511200	0,863	95,89
			Rata-rata	95,59

Menurut Harmita pada tahun 2004, % perolehan kembali dari analit yang memiliki konsentrasi sekitar 1 ppm adalah 80-110 %. Dari hasil yang didapat hanya satu konsentrasi baku pembanding yang memenuhi syarat. Rendahnya nilai persen perolehan kembali disebabkan karena proses preparasi sampel yang kurang baik sehingga ada senyawa pengotor yang masih terbawa, dan senyawa pengotor ini mengganggu hasil analisis.

3. Presisi

Tabel.4 Data nilai presisi

No.	C (Baku pembanding)	Luas Area	C (Hasil)
1	0,5	215175	0,352
2	0,5	207349	0,338
3	0,5	211484	0,345
4	0,5	215363	0,352
5	0,5	210287	0,343
6	0,5	207645	0,338
		Rata-rata	0,345
		SD	0,0063
		RSD	1,82%

Pengujian presisi dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil uji yang dilakukan secara berulang pada sampel. Dari hasil perhitungan nilai RSD yang di dapatkan memenuhi syarat, karena menurut Harmita pada tahun 2004 untuk sampel makanan persyaratan nilai RSD adalah ≤ 16 %. Sehingga dapat disimpulkan bahwa perolehan nilai perolehan kembali memenuhi syarat.

4. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

Batas deteksi (LOD) adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat di deteksi.

$$\text{LOD} = \frac{3 \times Sy/x}{b \text{ (slope)}} = \frac{3 \times 12683,199}{579028,117} = 0,0657 \text{ ppm}$$

Batas kuantifikasi (LOQ) adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan.

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times Sy/x}{b \text{ (slope)}} = \frac{10 \times 12683,199}{579028,117} = 0,2192 \text{ ppm}$$

E. Kesimpulan

Hasil analisis dari kedua sampel yang digunakan, menunjukkan bahwa sampel a (spesies *Apis cerana*) dan sampel b (spesies *Trigona sp*) tidak mengandung tetrasiklin. Hasil validasi menunjukkan bahwa kurva kalibrasi menghasilkan linieritas yang baik ($r^2 = 0,996$). Akurasi berada pada rentang 55,12- 96,22%, hasil ini belum memenuhi persyaratan akurasi yaitu berada pada rentang 80-110%. Presisi yang dihasilkan adalah 1,82%, sudah memenuhi persyaratan yaitu $\leq 16\%$. Batas deteksi (LOD) menunjukkan nilai 0,0657 ppm dan batas kuantifikasi (LOQ) menunjukkan nilai 0,2192 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Basset,J ,dkk. 1994. Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik Buku Kedokteran EGC : Jakarta.
- Harmita. 2004. “Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya”, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 3 Desember, Vol. 1, 117-135.
- Kusumaningsih, A., T.B. Murdiati, S. Bahri, 1996. Pengetahuan Peternak Tentang Waktu Henti Obat dan Hubungannya Dengan Residu Antibiotika Pada Susu. *Media Kedokteran Hewan* , FKH. Universitas Airlangga, Surabaya. 12:260-267.
- Mace,H. 1984. *The Complete Handbook of Beekeeping*. Warda Cick Limited:London.
- Miller J.N. 2000.*Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4th ed. Harlow:Prentice. Hall.
- Mutschler,E.1999. *Dinamika Obat Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*, terjemahan M.B. Widiyanto dan A.S Ranti. Penerbit ITB :Bandung.
- Nurfitasari,Diah.2013. Analisis Residu Antibiotika Tetrasiklin pada Madu yang Beredar di Wilayah Bandung dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT),[SKRIPSI]. Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung : Bandung.
- Robinson J.R. 1975. *Fundamental Of Acid-Base Regulation*, 5th edition. Oxford: BlackwellScientific Publication.
- Rohman, Abdul. 2009. *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. Graha Ilmu : Yogyakarta.

Satiadarma, Muhammad, dkk. 2004. *Asas Pengembangan Prosedur Analisis*. Airlangga University Press : Surabaya.

Shalaby A.R, Salama Nadia, Abou-Raya SH, et al. 2011. *Validation of HPLC Method for Determination of Tetracycline Residues in Chicken Meat and Liver*. Cairo University : Elsevier Publication.

Swartz, M.E., dan Krull, I.S. 1997. *Analytical Method Development and Validation*, Marcell Dekker: USA.

Vinas Pilar, Balsalobre Nuria, Lopez-erroz Carme. 2003. *Liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the analysis of tetracycline residues in honey*. University of Murcia Spain : Elsevier Publication.

