

## **Pengembangan Metode Analisis Residu Antibiotika Tetrasiklin pada Madu di Kota Bandung dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

Analysis of Residual Method Development in Antibiotic Tetracycline Honey in Bandung Used High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

<sup>1</sup>Heni Utari, <sup>2</sup>Diar Herawati, <sup>3</sup>Anggi Arumsari

<sup>1,2,3</sup>Prodi Ilmu Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: <sup>1</sup>Heniutari00@gmail.com, <sup>2</sup>diarmunawar@gahoo.com, <sup>3</sup>anggiarumsari@yahoo.com

**Abstract.** A method development of tetracycline antibiotic residues analysis in two sample of honey has been done, used High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method with a UV detector at 365 nm wavelength, Zorbax<sup>®</sup> ODS C-18 column (250 x 4.6 mm) methanol : a solvent mixture (oxalic acid 0.01 M-acetonitrile, 4:1) by comparison 14:56:30 mobile phase with a flow rate 1 ml/minutes, the method development was carried out at the preparation stage, the process of Liquid-Liquid Extraction and Solid Phase Extraction (SPE). Result of analysis of the two sample show that sample 1 (Honey from Germany) and sampel 2 (Honey from Indonesian) positive contain tetracycline. In the Validation phase calibration curve showing Linier result ( $r^2 = 0.996$ ); accuracy 81.988% of sample 1; and accuracy 93.166% of sample 2; precision of sample 1 0.808% and the precision of sample 2 0.2635%; The limit of detection (LOD) indicates value of 7.351ppm and quantition (LOQ) indicates value of 24.503 ppm.

**Keywords :** Honey, Tetracycline, SPE, High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

**Abstrak.** Telah dilakukan pengembangan metode mengenai residu antibiotik tetrasiklin dalam 2 sampel madu dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan detektor UV dengan panjang gelombang 365 nm, kolom Zorbax<sup>®</sup> ODS C-18 (250 x 4,6 mm), fase gerak metanol : campuran pelarut (asam oksalat 0,01 M-asetonitril, 4:1) dengan perbandingan 14:56:30 dengan laji alir 1 ml/menit. Pengembangan metode dilakukan pada tahap preparasi, yaitu proses Ekstraksi Cair-Cair (ECC) dan *Solid Phase Extraction* (SPE). Hasil analisis kedua sampel menunjukkan bahwa sampel 1 (madu dari Negara Jerman) dan sampel 2 (madu dari Negara Indonesia) positif mengandung tetrasiklin. Pada tahap validasi, kurva kalibrasi menunjukkan hasil linier ( $r^2 = 0,996$ ). Akurasi sampel 1 sebesar 81,988% dan akurasi sampel 2 sebesar 93,166%, Presisi sampel 1 yang di dihasilkan yaitu 0,808 % dan Presisi Sampel 2 yang di dihasilkan yaitu 0,263 %, Batas deteksi (LOD) menunjukkan nilai 7,351 ppm dan batas kuantisasi (LOQ) menunjukkan nilai 24,503 ppm.

**Kata Kunci:** Madu, Tetrasiklin, SPE, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

## A. Pendahuluan

Madu adalah cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang di hasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (*floral nectar*) atau bagian lain dari tanaman (*ekstra floral nectar*) atau ekskresi serangga (SNI 01-3545-2004, 2004).

Dari zaman dahulu madu merupakan makanan yang sangat digemari dan digunakan sebagai obat. Ditemukan dalam lukisan-lukisan dalam piramida di Mesir yang menggambarkan penggunaan madu sebagai makanan dan obat-obatan. Juga di dalam koleksi George Eber yang di lukis 3500 tahun yang lalu dalam satu jenis rumput menerangkan bahwa madu bisa digunakan untuk mengobati luka-luka, merangsang urinasi, dan mempermudah pengeluaran isi perut (Adji, 2004:10).

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat disimpulkan bahwa terdapat resiko residu antibiotik tetrasiklin dalam madu. Sehingga dapat dirumuskan permasalahan yang menjadi faktor penelitian ini adalah; berapakah kadar residu antibiotik tetrasiklin dalam madu impor dan madu lokal yang beredar di Kota Bandung? Selanjutnya, tujuan dalam penelitian ini diuraikan dalam pokok-pokok sbb.

1. Untuk mengetahui dan menganalisis kadar residu antibiotika tetrasiklin dalam madu dan madu impor dan madu lokal yang beredar di Kota Bandung
2. Untuk menentukan metode yang sesuai untuk mendapatkan hasil yang tervalidasi
3. Untuk meningkatkan kewaspadaan produsen terhadap resiko residu antibiotic dalam madu
4. Untuk memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat agar lebih waspada dalam pemilihan madu impor maupun madu lokal yang dijual dipasaran.

## B. Landasan Teori

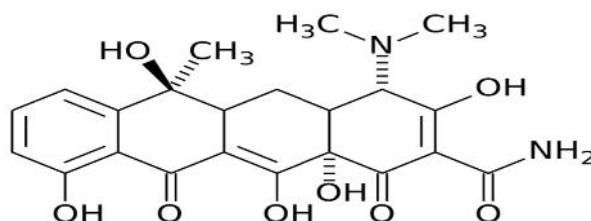
Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Tjay & Rahardja, 2007:1).

Antibiotik adalah zat biokimia yang diproduksi oleh mikroorganisme, yang dalam jumlah kecil dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme lain (Harmita dan Radji, 2008:2).

### Sumber dan Jenis-Jenis Antibiotika

#### 1. Tetrasiklin

Tetrasiklin diisolasi dari *Streptomyces aureofaciens* pada tahun 1948, merupakan antibiotik spektrum luas pertama yang efektif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif dan banyak organisme lainnya, seperti mikrobakterium, riketsia, dan klamidia (Joyce L, 1996: 337).



Gambar 1. Struktur Tetrasiklin

Tetrasiklin bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri dan mempunyai efek bakteriostatik. Tetrasiklin tidak efektif untuk melawan *Staphylococcus aureus* (kecuali untuk tetrasiklin yang lebih baru), *Pseudomonas*. Obat ini dapat dipakai untuk melawan *Mycoplasma pneumonia* (Joyce L, 1996: 338).

### Residu Antibiotika

Pemakaian antibiotika sebagai pengobatan atau terapi atau sebagai imbuhan pakan dapat meningkatkan produksi ternak sehingga dapat mengejar target yang diinginkan bagi para peternak. Tetapi di sisi lain pemakaian antibiotika dapat menyebabkan beberapa masalah, apabila pemberian antibiotika tidak beraturan yang dapat menyebabkan residu dalam jaringan-jaringan hewan. Kemudian residu ini dapat membahayakan bagi kesehatan manusia yang mengkonsumsinya yang dapat menyebabkan reaksi alergi yaitu dapat mengakibatkan peningkatan kepekaan, kemudian reaksi resistensi akibat mengkonsumsi dalam konsentrasi rendah dalam jangka waktu lama.

Dengan bahayanya efek residu terhadap kesehatan, maka ada ketentuan nilai Batas Maksimum Residu (BMR). Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI No. 01-6366-2000), maksimum residu antibiotika tetrasiklin adalah 0,1  $\mu\text{g/g}$ .

### Efek Samping Residu Antibiotika

Pengaruh residu antibiotika dalam makanan terhadap manusia diantaranya adalah dapat menyebabkan alergi bagi konsumen yang hipersensitif, membuat pasien resisten bakteri patogen sehingga dapat menyebabkan berkembangnya suatu penyakit yang tidak dapat dikontrol dengan antibiotik lain (Indri, 2006: 1-2).

## C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

### Hasil Analisis Tetrasiklin dalam Madu

Dari dua sampel yang dianalisis keduanya dapat diidentifikasi Berikut hasil identifikasi kadar tetrasiklin dalam sampel madu yang dapat dilihat Pada **Tabel 1**,

**Tabel 1.** Kadar Tetrasiklin dalam Sampel Madu

Nama Sampel	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Kadar (ppm)	Hasil (+/-)
Sampel 1	2,857	8835054	17,652	+
Sampel 2	2,857	7019643	14,197	+

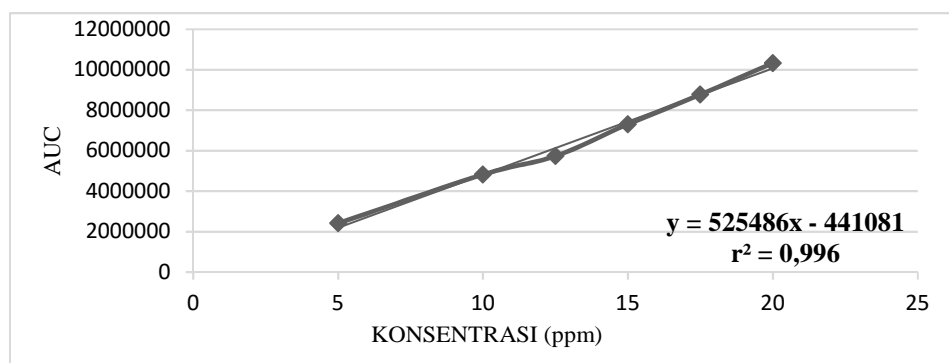
**Keterangan:** (+) = terdeteksi      (-) = tidak terdeteksi

Dari hasil identifikasi kadar tetrasiklin dalam tabel diatas, dapat disimpulkan secara kualitatif bahwa pada sampel 1 dan sampel 2 positif mengandung tetrasiklin, kadar sampel 1 sebesar 17,652 ppm dan kadar sampel 2 sebesar 14,197 ppm karena dilihat dari waktu retensi sampel dibandingkan dengan waktu retensi standar (tetrasiklin). waktu retensi pada masing-masing sampel 2,857 sedangkan pada standar

2,850. Sehingga waktu retensi sampel berada pada rentang waktu retensi standar dengan luas area yang berbeda.

### Validasi Metode Analisis

#### 1. Linieritas



**Gambar 2.** Kurva Kalibrasi

Dari kurva kalibrasi, didapat persamaan regresi linier  $y = 525486x + 441081$  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

Dari hasil akurasi yang diperoleh nilai persen perolehan kembali dari sampel 1 masing-masing konsentrasi sebesar 85,579% pada konsentrasi 10 ppm, 80,088% pada konsentrasi 12,5 ppm dan 80,299% pada konsentrasi 15 ppm. Dapat disimpulkan dari ketiga konsentrasi tersebut nilai % perolehan kembali Akurasi memenuhi syarat karena masuk dalam rentang 80-120%.

Dari hasil akurasi yang diperoleh nilai persen perolehan kembali dari sampel 2 masing-masing konsentrasi sebesar 102,135% pada konsentrasi 10 ppm, 91,994% pada konsentrasi 12,5 ppm dan 85,371% pada konsentrasi 15 ppm. Dapat disimpulkan dari ketiga konsentrasi tersebut nilai % perolehan kembali Akurasi memenuhi syarat karena masuk dalam rentang 80-120%.

#### 3. Presisi

Pengujian presisi dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil uji yang dilakukan secara berulang pada sampel. Dari hasil presisi dapat disimpulkan bahwa pada 12,5 ppm sampel 1 didapat nilai SBR 0,808% dan pada 12,5 ppm sampel 2 didapat nilai SBR 0,263%. Hasil tersebut memenuhi syarat karena SBR yang baik adalah 2%.

#### 4. LOD dan LOQ

Batas deteksi (LOD) adalah nilai parameter uji batas, yaitu konsentrasi analit terendah yang masih terdeteksi. Hasil LOD yang diperoleh yaitu 7,351 ppm. Batas kuantitasi di definisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat di terima pada kondisi operasional metode yang di gunakan. Hasil LOQ yang di peroleh yaitu 24,503 ppm. Apabila Hasil kadar analisis tidak masuk pada rentang LOD dan LOQ maka dapat di simpulkan kadar tersebut tidak masuk syarat tersebut.

#### D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dalam penelitian ini, peneliti menyimpulkan beberapa hasil penelitian sebagai berikut:

1. Hasil analisis dari kedua sampel yang digunakan positif mengandung tetrasiklin, menunjukkan bahwa sampel 1 kadar 17,625 ppm dan sampel 2 kadar 14,197 ppm.
2. Hasil validasi menunjukkan bahwa kurva kalibrasi menghasilkan linieritas yang baik ( $r^2 = 0,996$ ).
3. Akurasi sampel 1 sebesar 81,988% dan akurasi sampel 2 sebesar 93,166%, hasil ini memenuhi persyaratan akurasi yaitu berada pada rentang 80-120 %.
4. Presisi sampel 1 yang di hasilkan yaitu 0,808 % dan Presisi Sampel 2 yang di hasilkan yaitu 0,263 % sudah memenuhi persyaratan yaitu 2 %.
5. Batas deteksi (LOD) menunjukkan nilai 7,351 ppm dan batas kuantisasi (LOQ) menunjukkan nilai 24,503 ppm.

#### E. Saran

Perlu dilakukan penelitian dengan metode yang lebih baik untuk menganalisis kandungan tetrasiklin dalam madu.

#### Daftar Pustaka

- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. 2000. Antibiotika Tetrasiklin. SNI 01-6366-2000. Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. 2004. Madu. SNI 01-3545-2004. Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. Farmakope Indonesia Edisi IV. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Gandjar. G.I dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Harmita. 2004, *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian: Depok.
- Joyce L. Kee, dan Evelyn R. Hayes. 1996. *Farmakologi: Pendekatan proses keperawatan*; alih bahasa, Peter Anugerah ; Editor, Yasmin Asih. Jakarta.
- Mulyadewi, Tammy. 2015. *Pengembangan Metode Analisis Residu Antibiotika Tetrasiklin Pada Madu di Kota Bandung dengan menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. [SKRIPSI]. Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung: Bandung.
- Nurfitasari, Diah. 2013. *Analisis Residu Antibiotika Tetrasiklin Pada Madu Yang Beredar di wilayah Bandung dengan menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. [SKRIPSI]. Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung: Bandung.
- Reybroek, Wim. 2003. *Residues of Antibiotics and Sulphonamides in Honey on the Belgian Market*. *Apiacta* 38 (2003) 23-30.
- Roy J. Gritter, James M. Bobbit, Arthur E. S., 1991. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit ITB. Bandung.
- Rooslamiati Indri, 2006. *Penetapan Kadar Residu Spiramisin Dalam Daging Ayam di Jakarta, Cibinong dan Sukabumi*. Media Litbang Kesehatan Volume XVI Nomor 1

- Suranto, Adji. 2007. *Terapi Madu*. Penebar Swadaya: Depok
- Suranto, Adji. 2004. *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*. PT Agro Media Pustaka: Depok
- Tjay, T. H dan Rahardja. K. 2007 *Obat-obat Penting: Khasit, Penggunaan dan Efek Sampingnya*, Edisi ke-6. Cetakan I. PT. Elex Media Komputindo: Jakarta.