

Analisis Kualitatif Residu Antibiotika Tetrasiklin pada Madu

Tammy Mulia Dewi, Diar Herawati, Syarif Hamdani

Prodi Farmasi FMIPA. Universitas Islam Bandung.

Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116

e-mail: tammy.muliadewi@yahoo.com, diarmunawar@gmail.com,
syarif.id@gmail.com

Abstrak. Dalam pembudidayaan lebah madu, antibiotika digunakan oleh peternak lebah madu untuk menghindari penyakit yang menyerang larva. Umumnya tetrasiklin digunakan sebagai obat-obatan hewan yang biasanya dicampurkan ke dalam pakan. Padahal penggunaan antibiotik di dalam madu menyimpan resiko alergi, gangguan pencernaan, dan resistensi antibiotika tetrasiklin. Sehingga perlu dipastikan residu tetrasiklin dalam madu tidak lebih dari batas maksimal yang ada di SNI yaitu 0,1 ug/g. Sampel madu yang dianalisis adalah lima madu impor yang berasal dari Jerman, Austria, China, Australia, dan Swiss yang dijual di salah satu supermarket di wilayah Kota Bandung. Analisis kualitatif residu tetrasiklin dalam madu dilakukan dengan metode metode ekstraksi cair-cair (ECC) dilanjutkan dengan penotolan pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Dilakukan dengan cara mengekstraksi cair-cair sampel madu dengan larutan etil asetat : air (8:2) selanjutnya dilakukan KLT dengan larutan pengembang kloroform : metanol (9:1). Dua dari lima sampel madu impor yang diuji menunjukkan hasil positif mengandung residu antibiotika tetrasiklin ditandai dengan munculnya pita atau spot pada saat plat terelusi. Kedua sampel tersebut adalah sampel madu impor yang berasal dari Jerman dan Austria. Nilai Rf yang didapat dari kedua sampel yang positif mengandung residu antibiotika tetrasiklin masing-masing adalah 0,5 dan 0,6. Hasil tersebut memenuhi syarat KLT yang baik, yaitu dengan rentang nilai Rf 0,2 – 0,8.

Kata Kunci: madu, tetrasiklin, Kromatografi Lapis Tipis.

A. Pendahuluan

Pada dasarnya madu adalah zat manis alami yang dihasilkan lebah madu dengan bahan baku nektar bunga. Nektar adalah suatu senyawa kompleks yang dihasilkan oleh kelenjar “*necterifier*” tanaman dalam bentuk larutan gula dengan konsentrasi yang bervariasi (Suranto, 2004). Madu merupakan suatu produk sehat dan alami yang dikonsumsi di seluruh dunia. Namun ternyata saat ini tidak setiap madu sehat untuk dikonsumsi karena saat ini, madu telah banyak terkontaminasi oleh senyawa-senyawa asing, salah satunya adalah antibiotik. Dalam pembudidayaan lebah madu, antibiotika digunakan oleh peternak lebah madu untuk menghindari penyakit yang menyerang larva lebah madu, sehingga mempengaruhi kualitas madu yang dihasilkan (Reybroeck, 2003). Madu yang beredar di Indonesia terdiri dari madu lokal dan madu impor. Resiko residu antibiotika tetrasiklin dalam madu impor ternyata lebih besar dari pada yang terkandung dalam madu lokal.

Antibiotik yang biasanya digunakan dalam pembudidayaan madu adalah antibiotik golongan tetrasiklin. Tetrasiklin merupakan antibiotik yang memiliki spektrum yang luas, artinya antibiotik ini memiliki kemampuan melawan sejumlah bakteri patogen. Penggunaan antibiotik tersebut harus sesuai dengan aturan karena bila menyalahi aturan, akan menimbulkan residu pada produk ternak. Residu antibiotik dapat menimbulkan alergi, keracunan, gagalnya pengobatan akibat resistensi, dan gangguan jumlah mikroflora dalam saluran pencernaan (Murdiati, 1997).

Residu obat adalah sisa dari obat atau metabolitnya dalam jaringan atau organ hewan atau ternak setelah pemakaian “obat hewan” (Rahayu, 2009). Menurut Oramahi

dkk, 2004; Bahri dkk, 2005 pemberian antibiotika sebagai pakan ternak yang diberikan dalam waktu yang cukup lama dengan tidak memperhatikan aturan pemberiannya akan terakumulasi di dalam jaringan tubuh ternak sehingga menyebabkan terdapatnya residu pada jaringan tubuh ternak (Indri, 2006: 1-2). Keamanan pangan asal ternak berkaitan erat dengan pengawasan pemakaian antibiotika dan “obat hewan” yang tergolong obat keras perlu memperhatikan waktu henti sehingga diharapkan residu tidak ditemukan lagi atau berada di bawah Batas Maksimum Residu (BMR). Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI No. 01-6366-2000), maksimum residu antibiotika tetrasiklin adalah 0,1 ug/g. Madu yang dianalisis dalam penelitian ini adalah madu impor asal Jerman, Austria, China, Australia, dan Swiss yang dijual di salah satu supermarket di wilayah Kota Bandung.

Analisis Residu Antibiotika tetrasiklin dalam madu membutuhkan teknik preparasi sampel yang cermat. Karena madu banyak mengandung komponen gula sederhana disakarida disamping kandungan komponen lainnya. Komponen gula sederhana ini memiliki karakter fisik yang cukup sulit untuk dipisahkan, sehingga perlu dipikirkan teknik preparasi sampel yang mendukung hasil analisis yang terjamin validasinya. Teknik yang tepat dan cepat adalah dengan ekstraksi cair-cair dan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

B. Landasan Teori

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

Zat-zat yang terkandung dalam madu sangatlah kompleks dan kini telah diketahui tidak kurang 181 macam zat yang terkandung dalam madu. Karbohidrat merupakan jumlah komponen terbesar yang terkandung dalam madu, yaitu lebih dari 75%. Jenis karbohidrat yang paling dominan hamper semua madu adalah dari golongan monosakarida yang terdiri dari fruktosa dan dekstrosa yang mencakup 85%-90% dari total karbohidrat yang terdapat dalam madu. Sisanya terdiri dari disakarida dan oligosakarida (Sihombing, 1997). Komposisi kedua setelah karbohidrat adalah air. Jumlahnya dari 15%-25%. Beragamnya kadar air dalam madu disebabkan oleh beberapa hal diantaranya kelembapan udara, jenis nektar, proses produksi dan penyimpanan (Suranto, 2007).

Secara umum madu berkhasiat untuk menghasilkan energi, meningkatkan daya tahan tubuh, dan meningkatkan stamina. Banyak penyakit yang dapat disembuhkan dengan madu diantaranya penyakit lambung, radang usus, jantung, dan hipertensi. Madu juga mengandung zat antibakteri sehingga baik untuk mengobati luka luar dan penyakit infeksi (Suranto, 2004). Madu mengandung senyawa fenofilik yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan berfungsi dalam menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif pada protein dan lemak. Antioksidan dapat mencegah terjadinya karsinogenesis dan mutagenesis (Abdul et al, 2008).

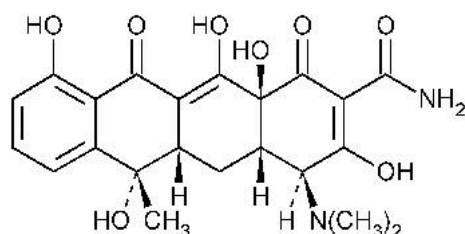
Antibiotika merupakan substansi yang dihasilkan oleh suatu organisme dan dapat menghambat pertumbuhan organisme lain. Antibiotika juga dimanfaatkan untuk bertahan hidup dan menghadapi organisme lain yang mengancam keberadaannya. Antibiotika ini menunjukkan aktivitas toksisitas selektif dan mungkin berbeda pada tiap organisme. (Pathania & Brown, 2008).

Pada dasarnya antibiotika dibedakan menjadi 2 (dua), yaitu antibiotika alamiah dan antibiotika sintetis. Antibiotika alamiah merupakan antibiotika yang telah tersedia secara alamiah yang merupakan hasil metabolisme sekunder dari mikroorganisme tertentu. Antibiotika alamiah terdiri dari; Penisilin (*Penicilium nonatum*), Sefalosporin (*Cephaalosporium acremonium*), Streptomisin (*Streptomyces grizeus*), Tetrasiklin (*Streptomyces sp*), Erythromisin (*Streptomyces erythreus*), Klorampenikol (*Streptomyces venezuelae*), Polimiksin (*Bacillus polimixa*), Basitrasin (*Bacillus subtilis*). Sedangkan antibiotika sintetis merupakan antibiotika yang secara keseluruhan disintesis atau dibuat di laboratorium dan merupakan zat kimia yang berfungsi untuk membunuh mikrobia. Yang termasuk dalam antibiotika ini yaitu: Sulfanomide, Nitrofur, Hidrazide, asam isonicotinamide (INH/Isoniazid) dan Nilidiksat (Murray, 1995).

Tetrasiklin ialah antibiotik yang umum digunakan sebagai obat-obatan veteriner dan diisolasi dari bakteri *Streptomyces sp*. penggunaan tetrasiklin sebagai obat-obatan veteriner umumnya dicampurkan ke dalam pakan. Tetrasiklin merupakan antibiotik yang bersifat bakteriostatik dan bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein kuman. Tetrasiklin memiliki spektrum yang luas, artinya antibiotik ini memiliki kemampuan melawan sejumlah bakteri patogen (Yuningsih, 2004).

Menurut farmakope Indonesia Edisi 4, Tetrasiklin memiliki pemerian serbuk hablur kuning, tidak berbau. Stabil di udara tetapi pada pemaparan dengan cahaya matahari kuat, menjadi gelap. Dalam larutan dengan pH lebih kecil dari 2, potensi berkurang dan cepat rusak dalam larutan alkali hidroksida.

Tetrasiklin mempunyai kelarutan sangat sukar larut dalam air, larut dalam 50 bagian etanol (95%) P, praktis tidak larut dalam kloroform P, dan dalam eter P. Larut dalam asam encer, larut dalam alkali disertai peruraian



Struktur Tetrasiklin

Antibiotika tetrasiklin digunakan untuk hewan sebagaimana digunakan pada manusia yaitu untuk mencegah dan mengobati infeksi. Manfaat pengobatan dengan antibiotika antara lain membasmi agen penyakit (Butaye et al, 2003), menyelamatkan hewan dari kematian, mengembalikan kondisi hewan untuk berproduksi kembali dalam waktu yang relatif singkat, mengurangi atau menghilangkan penderitaan hewan dan mencegah penyebaran mikroorganisme ke alam sekitarnya yang dapat mengancam kesehatan hewan dan manusia (Adam, 2002).

Efek samping residu antibiotika pada manusia adalah reaksi alergi, toksisitas, gangguan pencernaan, dan resistensi terhadap mikroorganisme yang menyebabkan mikroorganisme yang menyebabkan penyakit akan kebal terhadap antibiotika, sehingga tidak dapat dikontrol oleh antibiotika lain (Anthony, 1997).

Kromatografi lapis tipis merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawamurni dan mengetahui kuantitasnya yang menggunakan kromatografi juga merupakan analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik menyerap

maupun merupakancuplikan KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofilik seperti lipid-lipid dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. KLT juga dapat digunakan untuk mencari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Bahan lapis tipis seperti silika gel adalah senyawa yang tidak bereaksi dengan pereaksi-pereaksi yang lebih reaktif seperti asam sulfat (Fessenden, 2003).

Kromatografi lapis tipis (KLT) seperti halnya kromatografi kertas, murah dan mudah dilakukan. Kromatografi ini mempunyai satu keunggulan dari segi kecepatan dari kromatografi kertas. Kromatografi lapis tipis membutuhkan hanya setengah jam saja, sedangkan pemisahan yang umum pada kertas membutuhkan waktu beberapa jam. Media pemisahannya adalah lapisan dengan ketebalan sekitar 0,1-0,3 mm zat padat adsorben pada lempeng kaca, plastic dan aluminium. Lempeng yang paling umum digunakan yang berukuran 8x2 inchi. Dan zat padat yang digunakan adalah alumina, KLT kadang-kadang disebut dengan kromatografi planar. Tidak ada cara yang mudah dalam mengelusi komponen sampel dari lempengan (kertas) untuk melintasi sebuah detektor tetapi telah dikembangkan peralatan untuk mengamati lempengan dengan sifat-sifat sampel seperti itu adsorpsi sinar UV dan pengedaran. (Undewood. 2002 : 551)

Pertimbangan untuk pemilihan pelarut pengembang (eluen) umumnya sama dengan pemilihan eluen untuk kromatografi kolom. Dalam kromatografi adsorpsi, pengelusi eluen naik sejalan dengan pelarut (misalnya dari heksana ke aseton, ke alkohol, ke air). Eluen pengembang dapat berupa pelarut tunggal dan campuran pelarut dengan susunan tertentu. Pelarut-pelarut pengembang harus mempunyai kemurnian yang tinggi. Terdapatnya sejumlah air atau zat pengotor lainnya dapat menghasilkan kromatogram yang tidak diharapkan.

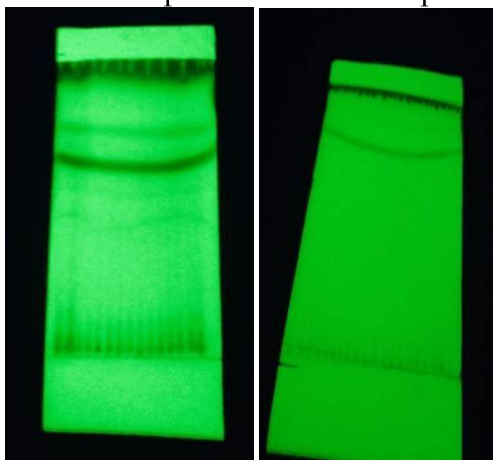
C. Hasil Penelitian

Dalam penelitian ini, pengambilan lima sampel dilakukan dengan cara memilih madu impor berasal Jerman, Austria, China, Australia, dan Swiss yang dijual di salah satu supermarket di Kota Bandung. Analisis kualitatif residu antibiotik Tetrasiklin, yang pertama kali dilakukan, 250 mg sampel madu diekstraksi, tujuan dari ekstraksi untuk mendapatkan analit yang mengandung tetrasiklin yang efektif dan efisien untuk dapat dianalisis.

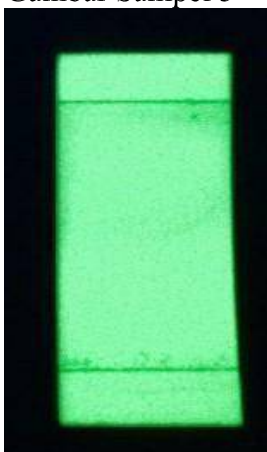
Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair, dimana terjadi distribusi zat pelarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi cair-cair yaitu etil asetat dan air (8:2). Kemudian madu didalam corong pisah dikocok secara teratur selama 15 menit, setelah itu didiamkan hingga larutan membentuk dua lapisan. Etil asetat terdapat dilapisan atas karena memiliki berat jenis yang lebih rendah yaitu 0,897 g/ml dibandingkan dengan air yang memiliki berat jenis 1 g/ml. Dari proses ekstraksi cair-cair, bagian yang digunakan untuk proses selanjutnya adalah etil asetat, karena tetrasiklin dapat larut dalam pelarut tersebut. Setelah itu larutan etil asetat dipekatkan dengan menggunakan waterbath dengan suhu 70°C. Tujuan dari pemekatan untuk menghilangkan pelarut organik. Sampel yang telah pekat ditotolkan pada plat KLT GF 245 yang sebelumnya telah diaktivasi selama 10 sampai 15 menit pada suhu 105°C. Tujuan dari aktivasi tersebut untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat pada plat tersebut. Dielusi dengan menggunakan eluen kloroform dan metanol (9:1).

Sebelumnya dilakukan penjenjuran eluen yang bertujuan untuk mendapatkan eluen yang optimum pada saat proses elusi.

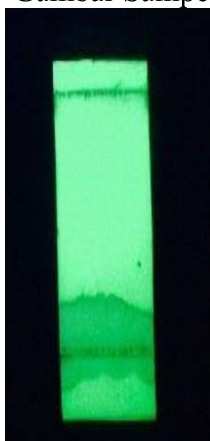
Gambar sampel 1 Gambar sampel 2



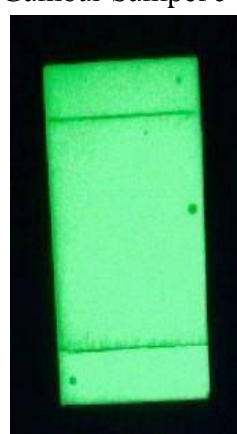
Gambar Sampel 3



Gambar Sampel 4



Gambar Sampel 5



Deteksi dan identifikasi dengan KLT memiliki beberapa keuntungan yaitu memerlukan waktu yang cepat dan mudah mengerjakannya, serta menggunakan peralatan yang murah dan sederhana (Sastrohamidjojo, 2002).

Hasil elusi yang didapatkan pada sampel 1 yang merupakan madu impor dari Jerman dan sampel 2 yang merupakan madu impor dari Austria terjadi elusi dengan baik dapat dilihat pada gambar sampel 1 dan 2. Sedangkan sampel 3, 4, dan 5 tidak terjadi elusi dengan baik bahkan tidak terjadi elusi. Tidak berhasilnya elusi pada sampel 3, 4, dan 5 disebabkan karena pelarut pengembang masih terdapat sejumlah air atau ada pengotor lain sehingga tidak didapat hasil pita yang diharapkan.

Sampel 1 dan 2 yang merupakan madu impor yang berasal dari Jerman dan Austria menunjukkan hasil positif tetrasiklin dengan nilai faktor retensi (R_f) yang didapat masing-masing adalah 0,5 dan 0,6 sedangkan pada sampel 3, 4, dan 5 yang merupakan madu impor dari China, Australia dan Swiss tidak dapat mengelusi secara baik sehingga diduga tidak mengandung tetrasiklin. Nilai faktor retensi (R_f) didapat dari jarak yang ditempuh oleh senyawa dibagi jarak yang ditempuh oleh pelarut. Nilai R_f berkarakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa

yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Ini disebabkan karena fase diam yang bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fase diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah.

Karena hanya sampel 1 dan 2 saja yang mengelusi dengan baik, maka hanya sampel 1 dan 2 saja yang dapat dihitung faktor retensi (Rf) –nya. Sampel 3, 4, dan 5 tidak dapat dihitung Rf –nya.

D. Kesimpulan

Pada penelitian ini, dua dari lima sampel madu impor yang berasal dari Jerman, Austria, China, Australia, dan Swiss yang dijual di salah satu supermarket di wilayah Kota Bandung positif mengandung residu tetrasiklin. Residu dianalisis secara kualitatif menggunakan metode KLT. Kedua sampel tersebut adalah sampel madu impor dari Jerman dan sampel madu impor dari Austria.

Kedua sampel positif tetrasiklin tersebut memiliki faktor retensi (Rf) masing-masing adalah 0,5 dan 0,6. Hasil tersebut memenuhi syarat KLT yang baik, yaitu dengan rentang nilai Rf 0,2 – 0,8. Sehingga sampel madu impor asal Jerman dan Austria mengandung residu antibiotika tetrasiklin.

Dapat disimpulkan bahwa madu impor dari Jerman dan Austria yang masuk ke Indonesia khususnya di salah satu supermarket di wilayah Kota Bandung menggunakan antibiotika tetrasiklin dalam proses pembudidayaan lebah madunya. Meskipun kadarnya belum diketahui secara pasti namun dianjurkan untuk berhati-hati mengonsumsi secara berlebihan karena madu tersebut diduga mengandung residu antibiotika tetrasiklin yang berbahaya bagi tubuh manusia.

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.
- Dr Johnson, Sapna. 2010. *Antibiotic Residues in Honey*. New Delhi.
- Fessenden. 2003. *Kimia Organik*. Jakarta : Erlangga
- Mujahid, Abu. 2011. *Teknik Pengobatan Islam (dari Hadist Shahih dan Hasan)*. Toobagus Life: Bandung.
- Murray, M. 1995. *The Healing Power of Herbs*. Prima Publishing: California.
- Mutschler, E. 1991. *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*. [skripsi]. Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung: Bandung.
- Pathania R, Brown ED. 2008. Small and Lethal: Searching for New Antibacterial Compound with Novel Model of Action. Minireview. *Biochem Cell Biol* 86: 111-115.
- Rooslamiati Indri, 2006. *Penetapan Kadar Residu Spiramisin Dalam Daging Ayam di Jakarta, Cibinong dan Sukabumi*. Media Litbang Kesehatan Volume XVI Nomor 1

- Sastrohamidjojo, H., 2002. *Kromatografi*. Liberty: Yogyakarta, 1,7
- Soebagio,dkk. 2002. *Kimia Analitik*. Malang : FMIPA UNM.Suranto, Adji.
2004. *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*. PT Agro Media Pustaka: Depok.
- Underwood.2006. *Analisis Kuantitatif*. Jakarta : Erlangga.