

Pengembangan Metode Deteksi Residu Bahan Kimia Obat dalam Daging Sapi dari Perdagangan dengan Cara Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Development of Residue Chemical Detection Method on Beef from Trade by Thin Layer Chromatography and High Performance Liquid Chromatography

¹Iftitah Rahmi, ²Nety Kurniaty, ³Amir Musadad Miftah

^{1,2,3}*Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116*

*email:*¹titharahmi7@gmail.com, ²netykurniaty@yahoo.com, ³amir.musadad.miftah@gmail.com

Abstract. The study has developed analysis method of drugs (BKO) salbutamol, chloramphenicol, spiramycin and tetracycline on beef using solid phase extraction methods, thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC). The research phase includes the preparation of samples of beef by centrifugation using a solution of trichloroacetic acid (TCA) 20% which will obtain supernatant. The result of supernatant is extracted in solid phase using a solvent extraction of ethanol, distilled water washing solution, and a solution of oxalic methanol elution. Extraction which is obtained in optimization by TLC using acetonitrile motion phase: methanol (1: 4) (v / v) showed the most excellent optimization in attracting salbutamol, chloramphenicol, spiramycin and tetracycline. Optimization is continued using stationary phase HPLC using a C-18 motion phase methanol:water containing 0.1% acetic acid (75:25) (v / v) generate most excellent analysis on salbutamol and chloramphenicol with the type of gradient elution and UV detector 280 nm.

Keywords:residu BKO, Solid Phase Extraction, TLC, HPLC.

Abstrak. Telah dilakukan pengembangan metode analisis residu bahan kimia obat (BKO) salbutamol, kloramfenikol, spiramisin, dan tetrasiklin pada daging sapi menggunakan metode ekstraksi fasa padat, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Tahap penelitian meliputi preparasi sampel daging sapi dengan sentrifuga menggunakan larutan trichloroacetic acid (TCA) 20% yang nantinya akan menghasilkan supernatan. Supernatan yang dihasilkan diekstraksi fasa padat menggunakan pelarut ekstraksi metanol, larutan mencuci akuades, dan larutan pengelusi metanol oksalat. Ekstraksi yang didapatkan di optimasi dengan KLT menggunakan fase gerak asetonitril:metanol (1:4) (v/v) menunjukkan optimasi paling baik dalam menarik salbutamol, kloramfenikol, spiramisin, dan tetrasiklin. Dilanjutkan optimasi dengan KCKT menggunakan fase diam C-18 fase gerak metanol:air yang mengandung asam asetat 0,1% (75:25) (v/v) menghasilkan analisa paling baik pada salbutamol dan kloramfenikol dengan tipe elusi gradien dan detektor UV 280 nm.

KataKunci:Residu BKO, Ekstraksi Fasa Padat, KLT, KCKT.

A. Pendahuluan

Penggunaan obat-obatan dalam usaha peternakan hampir tidak dapat dihindarkan, karena ternak diharapkan selalu berproduksi secara optimal yang berarti kesehatan ternak harus selalu terjaga. Untuk memenuhi tuntutan produksi ternak yang tinggi, maka ketersediaan obat hewan sangat diperlukan. Tambahan pakan atau *feed additive* dapat diartikan sebagai suatu bahan yang ditambahkan ke dalam pakan dalam jumlah yang kecil. Secara alami imbuhan pakan bukan merupakan bahan yang terdapat dalam pakan, tetapi apabila ditambahkan pada pakan akan memperbaiki kualitas pakan, dapat meningkatkan efisiensi dari pakan, sehingga dapat meningkatkan produksi ternak (Anggorodi, 1985).

Daging merupakan salah satu pangan yang dapat memenuhi kebutuhan gizi, khususnya protein hewani yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Seiring meningkatnya perkembangan jumlah penduduk di Indonesia, maka permintaan produk-produk untuk pemenuhan gizi pun semakin meningkat, diantaranya permintaan daging sapi atau daging ayam pun meningkat. Dengan meningkatnya permintaan akan daging tersebut, membuat para peternak merasa perlu meningkatkan produksi dan kualitas daging sapi. Di pertengahan tahun 2015, ada beberapa perusahaan penggemukan sapi (*feedloter*) yang diduga menggunakan bahan aditif hewan kelompok Beta Agonist 2 sebagai campuran pakan ternak guna memicu pertumbuhan berat badan dan meningkatkan kualitas daging sapi.

Pelarangan penggunaan bahan aditif hewan tersebut tercantum pada surat edaran Dirjen Peternakan, Kementerian Pertanian Nomor 30059/HK.340/F/11/2011 tanggal 30 November 2011 mengenai pelarangan peredaran dan penggunaan obat-obatan kelompok Beta Agonist 2 dan turunannya di Indonesia.

Di Indonesia, kesadaran akan bahaya residu antibiotika dalam produk peternakan masih kurang mendapatkan perhatian, karena pengaruhnya memang tidak terlihat secara langsung. Akan tetapi akan membahayakan kesehatan manusia, apabila produk peternakan seperti susu, daging dan telur yang mengandung residu dikonsumsi secara terus menerus setiap hari (McCracken, 1977 hal 239-244).

Meskipun penggunaan bahan tambahan makanan di Indonesia sudah diatur dengan peraturan Menteri Kesehatan RI No 732/Men/Kes/PER/ IX/98, pada kenyataannya dimasyarakat tetap terjadi penyalahgunaan akan bahan-bahan tambahan lainnya yang sebenarnya bukan untuk bahan tambahan makanan.

Menurut data Kementerian Pertanian, penggunaan bahan berbahaya bagi kesehatan jelas melanggar UU 8/1999 tentang perlindungan konsumen, UU 18/2012 tentang pangan, UU 41/ 2014 tentang peternakan dan kesehatan hewan, serta surat edaran Dirjen Peternakan dan Kesehatan Hewan.

Berdasarkan pemaparan diatas maka penelitian ini bertujuan pengembangan metode deteksi residu berbagai BKO dalam daging dengan menggunakan ekstraksi fasa padat, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi cair kinerja tinggi pada daging sapi dari perdagangan.

B. Landasan Teori

Menurut Murwani *et.al.* (2002) bahan tambahan pangan ternak adalah bahan pakan tambahan yang diberikan pada ternak dengan tujuan untuk meningkatkan produktifitas ternak maupun kualitas produksi.

Fungsi bahan tambahan pangan pada pakan ternak adalah untuk menambah vitamin-vitamin, mineral dan antibiotika dalam ransum, menjaga dan mempertahankan kesehatan tubuh terhadap serangan penyakit dan pengaruh stress, merangsang

pertumbuhan badan (pertumbuhan daging menjadi baik) dan menambah nafsu makan, meningkatkan produksi daging maupun telur.

Daging yang dapat dikonsumsi adalah daging yang berasal dari hewan yang sehat. Saat penyembelihan dan pemasaran berada dalam pengawasan petugas rumah potong hewan serta terbebas dari pencemaran mikroorganisme. Secara fisik, kriteria atau ciri-ciri daging yang baik adalah berwarna merah segar, berbau aromatis, memiliki konsistensi yang kenyal dan bila ditekan tidak terlalu banyak mengeluarkan cairan. Komposisi daging terdiri atas 75% air, 18% protein, 3,5% lemak dan 3,5% zat-zat non protein yang dapat larut. Secara umum, komposisi kimia daging terdiri atas 70% air, 20% protein, 9% lemak dan 1% abu. Jumlah ini akan berubah bila hewan digemukkan yang akan menurunkan persentase air dan protein serta meningkatkan persentase lemak (Romans,*et al*, 1994).

Bahan kimia obat dalam ternak merupakan senyawa kimia obat yang ditambahkan dengan sengaja kedalam pakan ternak dengan maksud untuk meningkatkan pertumbuhan dari ternak.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan meliputi beberapa tahapan yaitu, tahap pertama preparasi sampel dengan sentrifugasi menggunakan larutan TCA 20%, tahap kedua ekstraksi sampel menggunakan pelarut ekstraksi metanol, larutan mencuci akuades, dan larutan pengelusi metanol oksalat. Tahap ketiga ekstraksi yang didapatkan di optimasi dengan KLT menggunakan fase gerak asetonitril:metanol (1:4) (v/v). Tahap keempat dilanjutkan optimasi dengan KCKT menggunakan fase diam C-18 fase gerak metano:air yang mengandung asam asetat 0,1% (75:25) (v/v) dengan detektor UV 280 nm.

D. Hasil Penelitian

Analisis dilakukan pada empat BKO yaitu salbutamol, kloramfenikol, spiramisin, tetrasiklin, dan empat sampel daging yang diduga mengandung salbutamol, kloramfenikol, spiramisin, dan tetrasiklin.

Dilakukan preparasi sampel daging yang sudah dihancurkan dan di simulasi dengan BKO. Sampel disentrifuga dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit yang sebelumnya ditambahkan larutan TCA 20% untuk mengendapkan protein, hasil yang didapat dari sentrifuga adalah supernatan. Supernatan ini yang akan di ekstraksi dengan ekstraksi fasa padat sampel yang akan di ekstraksi dimasukan kedalam kolom ekstraksi fasa padat diharapkan dapat terjepap dalam kolom kemudian dilanjutkan dengan tahap pembilasan atau pencucian untuk menghilangkan pengotor yang ikut terjepap didalam kolom tapi tidak ikut menarik analit sehingga analit dapat dielusi menggunakan pelarut yang kuat menarik analit, menggunakan pelarut ekstraksi metanol, larutan mencuci akuades, dan larutan pengelusi metanol oksalat. Tahap berikutnya optimasi fase gerak pada KLT, pada optimasi ini menggunakan fase gerak asetonitril:metanol dengan berbagai perbandingan 5:0, 4:1, 3:2, 2:3, 1:4 dengan maksud untuk melihat pada perbandingan berapa ke empat BKO tersebut dapat dianalisis bersama dengan fase gerak yang sama dan dilihat dibawah sinar UV 254 nm. Pemilihan fase gerak asetonitril:metanol dikarenakan sifat dari kedua larutan ini polar, yang nantinya akan dapat menarik BKO yang bersifat polar yang terjepap pada plat KLT.

Tabel 1. Data pengamatan nilai Rf pada larutan baku pembanding BKO

Fase gerak	Nilai Rf larutan baku pembanding				
	Asetonitril:metanol	salbutamol	kloramfenikol	tetrasiklin	spiramisin
5:1	-	0.8	tetap	tetap	Spot = 0.8
4:1	-	0.7	0.2	tetap	Spot = 0.2; 0.5; 0.8
3:2	-	0.7	0.2	0.3	Spot = 0.1; 0.2; 0.5
2:3	-	0.7	0.6	0.4	-
1:4	0.6	0.7	0.4	0.3	Spot : 0.2; 0.4; 0.7; 0.6

Dari hasil optimasi pada larutan stok BKO, dapat dipilih fase gerak yang baik digunakan untuk analisis semua BKO tersebut dengan menggunakan perbandingan fase gerak asetonitril:metanol (1:4). Dilakukan analisis pada keempat sampel daging yang diduga mengandung BKO tersebut.

Tabel 2. Data pengamatan nilai Rf pada sampel

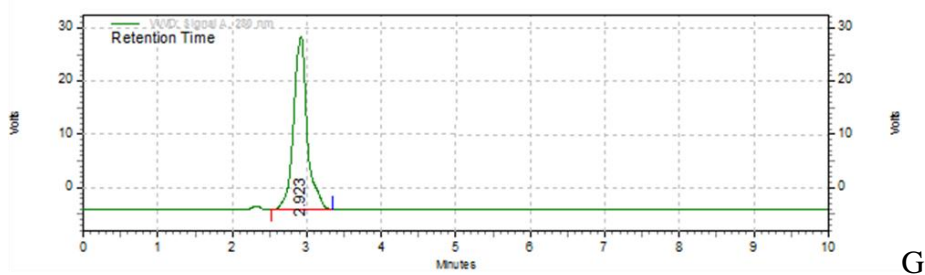
Sampel	Nilai Rf		
	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Sampel 1	-	-	-
Sampel 2	-	-	-
Sampel 3	0.8	0.7	0.7
Sampel 4	-	-	-

Dari tabel pengamatan diatas dapat disimpulkan sampel 3 mengandung BKO chloramfenikol, karena nilai Rf yang dihasilkan sama dengan nilai Rf pada larutan stok BKO chloramfenikol yaitu 0.7. Dilanjutkan analisis pada sampel simulasi, pada sampel simulasi didapatkan hasil nilai Rf yang sama seperti nilai Rf pada analisis larutan stok BKO.

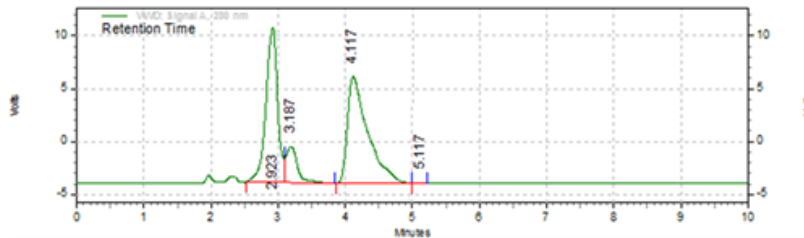
Tabel 3. Data pengamatan nilai Rf pada sampel simulasi

Sampel simulasi	Salbutamol	Chloramfenikol	Spiramisin	Tetrasiklin
Nilai Rf	0.6	0.7	0.4	0.2

Tahap berikutnya dilanjutkan pada tahap optimasi fase gerak dengan metode KCKT. Pada metode KCKT fase gerak yang akan dioptimasi adalah metanol:air yang mengandung asam oksalat 0.1% dengan perbandingan (75:25). Dalam proses optimasi fase gerak pada KCKT, yang perlu diperhatikan adalah prinsip *like dissolve like*. Kromatogram yang dihasilkan sebagai berikut;

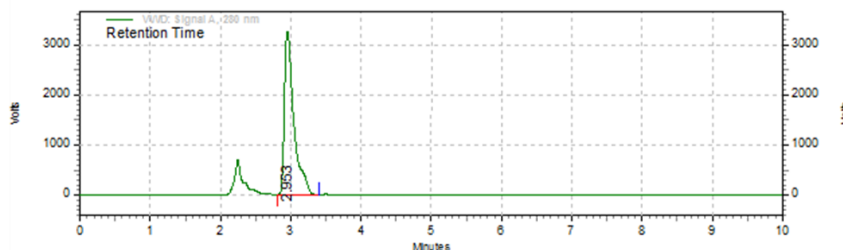


Gambar 1. Hasil optimasi sistem KCKT BKO kloramfenikol



Gambar 2. Hasil optimasi sistem KCKT BKO salbutamol

Dari hasil kromatogram yang di dapat pada gambar 1 dan gambar 2 dengan fase gerak metanol:air yang mengandung asam oksalat 0,1% hanya bisa menganalisis BKO kloramfenikol dan salbutamol.



Gambar 3. kromatogram sampel 3

Dari optimasi fase gerak yang didapat, dilakukan analisis KCKT pada sampel uji 3 yang sudah ditetapkan pada analisis KLT mengandung BKO kloramfenikol, dengan maksud menguji sampel 3 apakah benar mengandung BKO kloramfenikol atau

tidak. Kromatogram yang didapat pada gambar 3 menunjukkan luas area dan waktu retensi yang sama dengan kromatogram pada gambar 1. Diuji kembali pada sampel simulasi BKO kloramfenikol, untuk memastikan apakah kromatogram yang didapat sesuai dengan kromatogram larutan baku perbandingan BKO kloramfenikol, dan kromatogram sampel yang mengandung BKO kloramfenikol. Dapat disimpulkan dari ketiga kromatogram tersebut memiliki luas area dan waktu retensi yang sama yang menunjukkan adanya BKO kloramfenikol.

Selanjutnya dilakukan Uji Kesesuaian Sistem pada KCKT dilakukan sebanyak 6 kali penyuntikan kemudian dihitung simpangan baku relatif dari luas area. Tujuan dari dilakukannya Uji Kesesuaian Sistem untuk mengetahui apakah sistem KCKT sudah sesuai dan memenuhi syarat atau tidak dengan nilai simpangan baku relatifnya tidak boleh lebih dari 2,0%. Nilai simpangan baku relatif luas area pada BKO kloramfenikol sesuai dengan syarat uji kesesuaian sistem tidak melebihi 2,0% sehingga disimpulkan sistem KCKT telah memenuhi syarat.

E. Kesimpulan

Metode KLT dengan fase gerak asetonitril:metanol dengan perbandingan 5:0 hanya dapat menarik BKO kloramfenikol, perbandingan 4:1 menarik BKO kloramfenikol dan spiramisin, perbandingan 3:2 menarik BKO kloramfenikol, spiramisin, tetrasiklin, perbandingan 2:3 dapat menarik 4 BKO tetapi tidak terlihat pada KLT apa bila empat BKO tersebut dicampur, perbandingan 1:4 dapat memisahkan empat BKO yang dicoba dengan Rf 0,2 (tetrasiklin), 0,4 (spiramisin), 0,6 (salbutamol), 0,7 (kloramfenikol). Metode ini dapat diterapkan pada fase gerak asetonitril:metanol dengan perbandingan 1:4. sedangkan pada metode KCKT dengan fase gerak metanol:air yang mengandung 0,1% asam oksalat pada perbandingan 75:35 hanya dapat memisahkan dua BKO yaitu salbutamol dan kloramfenikol. Dari sampel yang dianalisis didapatkan 1 sampel yang mengandung BKO yaitu BKO kloramfenikol.

Daftar Pustaka

- Anggorodi. (1995). *Nutrisi Aneka Ternak Unggas*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Botsoglou, N.A. dan Fletouris, D.J. (2001). *Drug Residues in Foods pharmacology, Food Safety, and Analysis*. New York: Marcel Dekker, Inc.: 985-987, 582-586.
- Caswell, M., C. Friis, E. Marco, P. Mc Mullin and Phillips. (2003). *The Europeanban on growth-promoting antibiotics and emerging consenquences for human and animal health*. J. Antimicrob. Chemother. 52: 159 – 161.
- Dubois, M., D. Flucard, E. Sior and Ph.Delahaut. (2001). *Identification and quantification of five macrolide antibiotics in several tissues, eggs and milk by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry*. J. Chromatogr. B. 753: 189 – 202.
- Gandjar, Gholib., dan Rohman. (2009). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Lipsy P. (2010). *Thin Layer Chromatography Characterization of the Active Ingredients in Excedrin and Anacin*. USA: Department of Chemistry and Chemical Biology, Stevens Institute of Technology
- McCrahen, A. (1977). *Detection of antibiotics in slaughtered animals . in Antibiotics and Antibiosis in Agriculture*. Butterworths, London 239-244.

- Meyer, V.R. (2004). *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. Chichester: John Wiley and Sons Inc. Halaman 4-8.
- Murwani, R., C. I. Sutrisno, Endang K., Tristiarti dan Fajar W. *Kimia dan Toksiologi Pakan*. (2002). Diktat Kuliah Kimia dan Toksiologi Pakan. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Romans, J. F. and P.T. Ziegler. (1974). *The Meat We Eat*. 10th ed. The Interstate Printers and Publisher Inc. Danville. Illionis.
- Skoog DA, West DM, Holler FJ. (1996). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 7th edition. New York: Saunders College Publishing. Hal. 17-25.