ANALISIS RESIDU TETRASIKLIN HCl PADA IKAN AIR TAWAR YANG BEREDAR DI PASAR KETINTANG MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Maulidia Agustin, Akademi Farmasi Surabaya
Rosita Dwi C., Akademi Farmasi Surabaya
Vika Ayu Devianti, Akademi Farmasi Surabaya

ABSTRAK

Salah satu budidaya ikan yang banyak dikembangkan oleh masyarakat ialah budidaya ikan air tawar. Pengembangan dan keberlanjutan kegiatan budidaya ikan air tawar sering menghadapi kendala, salah satunya adalah bila terjadi serangan infeksi penyakit. Salah satu cara agar budidaya ikan air tawar terhindar dari infeksi penyakit, maka ditambahkan antibiotik pada pakan ternak. Antibiotik yang sering digunakan dalam imbuhan pakan ternak adalah tetrasiklin HCl. Menurut SNI 01-6366-2000, kadar residu tetrasiklin HCl dalam daging dan susu tidak boleh melebihi 0,1 ppm. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar tetrasiklin HCl yang terkandung dalam ikan air tawar yang beredar di pasar Ketintang. Ikan air tawar yang digunakan adalah ikan lele. Preparasi sampel dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan buffer McIlvaine-EDTA. Adisi standar tetrasiklin HCl dengan variasi konsentrasi 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm dilakukan terhadap sampel dan dilakukan pengukuran menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar residu tetrasiklin HCl pada sampel ikan lele 1 dan ikan lele 2 masing-masing sebesar 32,5156 ppm dan 154,4218 ppm. Nilai tersebut telah melebihi batas maksimum residu (BMR) tetrasiklin yang diperbolehkan menurut SNI 01-6366-2000 yaitu 0,1 ppm.

Keywords : Tetrasiklin HCl, Ikan Air Tawar, Spektrofotometri UV-VIS

ABSTRACT

One of the aquaculture that has developed by many people is freshwater aquaculture. The development and sustainability of freshwater aquaculture activities frequently deal with obstacles, one of them is when the infection was attack the freshwater colony. One of the method to avoid infection disease is by adding antibiotics in animal feed. Antibiotics that commonly used as animal feed additives is tetracycline HCl. According to SNI 01-6366-2000 the level of tetracycline HCl residue in meat and milk should not be exceeded 0,1 ppm. This study was conducted to analyze tetracycline HCl level which contained in freshwater fish circulating in the Ketintang market. Catfish were used as samples. Samples preparation was conducted via extraction by using buffer Mcllvaine-EDTA. Standard addition of 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm and 20 ppm tetracycline HCl and the measurement using spectrophotometer UV-VIS method was carried out to the sample. The result shows that tetracycline HCl residue level in catfish sample are 32,5156 ppm and 154,4218 ppm respectively. These values has exceeded the permitted level by SNI 01-6366-2000 that equal to 0,1 ppm.

Keywords : Tetracycline HCl, Freshwater Fish, UV-VIS Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Antibiotik secara garis besar adalah metabolit dari mikroba tertentu yang dalam jumlah sangat encer akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Saat ini penggunaan antibiotik sudah mulai meluas. Awalnya antibiotik digunakan untuk pengobatan pada manusia, namun saat ini juga digunakan sebagai imbuhan pakan ternak agar dapat memacu pertumbuhan yang lebih besar dan lebih cepat serta dapat mencegah terjadinya infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik yang berlebihan menyebabkan timbulnya residu obat di dalam daging ternak, telur, susu, atau produk ternak lainnya (Nurhasnawati, dkk., 2016).

Penggunaan antibiotik sebagai imbuhan pada pakan ternak sudah lazim digunakan, salah satunya pada budidaya ikan air tawar. Dalam budidaya ikan air tawar, sering mengalami kendala untuk mendapatkan kualitas ikan yang baik dan terhindar dari serangan penyakit atau infeksi bakteri. Sehingga diperlukan suatu senyawa yang mampu melawan infeksi bakteri (Jasmanindar, 2011 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016).

Tetrasiklin merupakan salah satu antibiotik yang sering digunakan dalam budidaya ikan yang bertujuan untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Nurhasnawati, dkk., 2016). Golongan tetrasiklin mampu menghambat sintesis protein bakteri pada ribosomnya. Paling sedikit terjadi 2 proses dalam masuknya antibiotik ke dalam ribosom bakteri Gram-negatif; pertama secara difusi pasif melalui kanal hidrofilik, kedua melalui sistem transpor aktif (Departemen Farmakologi dan Terapeutik, 2007).

Menurut SNI 01-6366-2000, kadar residu antibiotik golongan tetrasiklin dalam daging dan susu tidak boleh melebihi 0,1 ppm. Kandungan residu obat pada makanan yang melewati batas maksimum residu (BMR) yang ditetapkan bila terakumulasi akan menyebabkan beberapa efek samping seperti reaksi alergis, keracunan, resistensi mikroba tertentu atau mengakibatkan gangguan fisiologis pada manusia (Harris, 1987 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Nurhasnawati, dkk., (2016), dalam analisis kadar residu tetrasiklin HCl pada ikan air tawar diketahui kadar residu tetrasiklin sebesar 192,067-257,409 μg/g. Kadar tersebut melebihi batas maksimum residu yang diperbolehkan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan

oleh Purnama dan Radila (2016), diketahui kadar residu tetrasiklin pada daging ayam pedaging pada 3 sampel yang berbeda masing-masing sebesar 96,4327 mg/kg untuk sampel A, sebesar 217,7052 mg/kg untuk sampel B, dan sebesar 98,7713 mg/kg untuk sampel C. Dari ketiga sampel, tidak ada yang memenuhi persyaratan sesuai dengan SNI 01-6366-2000 yaitu kadar residu tetrasiklin tidak boleh melebihi 0,1 mg/kg.

Dalam analisis tetrasiklin secara kuantitatif dapat digunakan metode Spektrofotometri UV-VIS. Metode ini dipilih karena senyawa tetrasiklin mempunyai gugus kromofor sehingga dapat terdeteksi pada alat spektrofotometri UV-VIS biasanya pada panjang gelombang 270 nm dan 356 nm. Selain itu, metode ini juga mampu digunakan untuk analisa zat dalam jumlah yang kecil, pengerjaannya mudah, sederhana dan cukup sensitif (Purnama dan Radila, 2016).

Berdasarkan alasan-alasan tersebut diatas maka hal inilah yang mendasari dilakukannya penelitian tentang analisis residu tetrasiklin HCl pada ikan air tawar di pasar Ketintang menggunakan Spektrofotometri UV-VIS.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, blender, botol semprot, kaca arloji, pipet tetes, pipet volume 0,5 mL, 1 mL, 2 mL dan 5 mL, pipet ukur 5 mL, bulb filler, timbangan analitik, labu ukur 1000 mL, labu ukur 250 mL, labu ukur 10 mL, 50 mL dan 100 mL, beaker glass 50 mL dan 100 mL, beaker glass 250 mL, gelas ukur 10 mL, 25 mL, 50 mL dan 100 mL, tabung reaksi, mechanical stirrer *Thermo scientific*, *sentrifuge (Centrifuge PLC series)*, dan spektrofotometri UV-VIS *Thermo scientific*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan air tawar segar yaitu ikan lele (bukan ikan beku atau yang sudah diolah) yang diambil dari Pasar Ketintang, aquadest, asam klorida pekat *Sigma-aldrich pro analysis*, asam sitrat monohidrat dinatrium hidrogenpospat anhidrat *Emsure*, dinatrium EDTA *Emsure*, dan standar tetrasiklin HCl *MilliporeSigma.*

Pembuatan Larutan

Larutan HCl 0,1 N

Asam klorida pekat 8,4 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 1 L yang telah diisi aquadest sampai secukupnya. Kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas (Laboratory Quality Assurance Division, 2007 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016).

Larutan buffer McIlvaine pH 4

Larutan Buffer McIlvaine dibuat dengan larutan asam sitrat 200 mL dicampurkan dengan 125 mL larutan natrium fosfat kemudian diukur pH nya. Larutan asam sitrat dibuat dengan melarutkan 5,2525 g asam sitrat monohidrat dengan aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas. Larutan natrium fosfat dibuat dengan melarutkan dinatrium hidrogenfosfat anhidrat 7,1025 g dengan aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas (Laboratory Quality Assurance Division, 2007 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016).

Larutan buffer McIlvaine-EDTA

Dinatrium EDTA dihidrat ditimbang sebanyak 12,98 g dan dilarutkan dengan 325 mL buffer McIlvaine (Laboratory Quality Assurance Division, 2007 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016).

Pembuatan larutan induk baku tertrasiklin HCl

Tertasiklin HCl ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm, larutan ini disebut larutan induk baku (LIB I). Dari larutan ini dipipet 5 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, lalu diencerkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 100 ppm (LIB II) (Laboratory Quality Assurance Division, 2007 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016).

Preparasi Sampel

Daging sampel yang sudah dipisahkan dari tulangnya, kemudian dihaluskan. Setelah halus, ditimbang sebanyak 20 g, dimasukkan ke dalam beaker dan ditambahkan 40 ml buffer McIlvaine-EDTA (pH 4) kemudian dihomogenkan

menggunakan *magnetic stirer* kemudian dilanjutkan dengan 5 tahap perlakuan. Tahap pertama, sampel yang telah dipreparasi disentrifugasi dengan kecepatan 3500 (skala 3,5) rpm 10 menit, kemudian supernatan diambil dan dipisahkan dari endapan. Tahap kedua, endapan pada tahap pertama ditambahkan 20 mL buffer McIlvaine-EDTA disentrifugasi dengan kecepatan 3500 (skala 3,5) rpm selama 10 menit kemudian supernatan diambil dan dipisahkan dari endapan. Tahap ketiga, endapan pada tahap kedua ditambah lagi dengan 20 mL buffer McIlvaine-EDTA dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 (skala 3,5) rpm selama 10 menit kemudian supernatan diambil dan dipisahkan dari endapan. Tahap keempat, supernatan yang diperoleh dari tahap pertama sampai pada tahap ketiga dikumpulkan kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 5000 (skala 5) rpm selama 20 menit. Dari hasil sentrifugasi, diperoleh supernatan dan sedikit endapan. Tahap kelima, supernatan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas. Larutan ini disebut larutan sampel (Laboratory Quality Assurance Division, 2007 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016).

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Tetrasiklin HCl

Dalam penentuan panjang gelomang maksimum ini, larutan induk baku (LIB II) 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan HCl 0,1 N hingga tanda batas, lalu dikocok sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 ppm. Setelah itu, diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm (Laboratory Quality Assurance Division, 2007 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016).

Penetapan Kadar Residu Tetrasiklin HCl dalam Ikan Air Tawar Menggunakan Adisi Standar

Dalam penelitian ini, penetapan kadar residu tetrasiklin HCl dalam ikan air tawar dilakukan dengan mengukur larutan sampel sebanyak 1,6 mL dan dimasukkan ke dalam 5 labu ukur 10 mL pada sampel lele. Kemudian dilakukan penambahan beberapa varian konsentrasi standar yaitu konsentrasi 0; 5; 10; 15; 20 ppm. Kemudian diencerkan menggunakan HCl 0,1 N hingga tanda batas. Sampel direplikasi sebanyak dua kali. Perhitungan kadar dapat dilakukan dengan membuat grafik antara absorbansi dan konsentrasi standar yang akan

menghasilkan persamaan regresi linier y = bx + a. Setelah itu, dilakukan ekstrapolasi garis pada sumbu X atau dilakukan substitusi terhadap absorbansi (y) = 0 pada persamaan regresi sehingga diperoleh konsentrasi residu tetrasiklin HCl dalam sampel yang diukur (Cx).

Dimana menurut metode adisi standar Cx = -Cs, ketika absorbansi (y) = 0 (Nurhasnawati, dkk., 2016).

Cx = Konsentrasi analit dalam larutan yang diukur

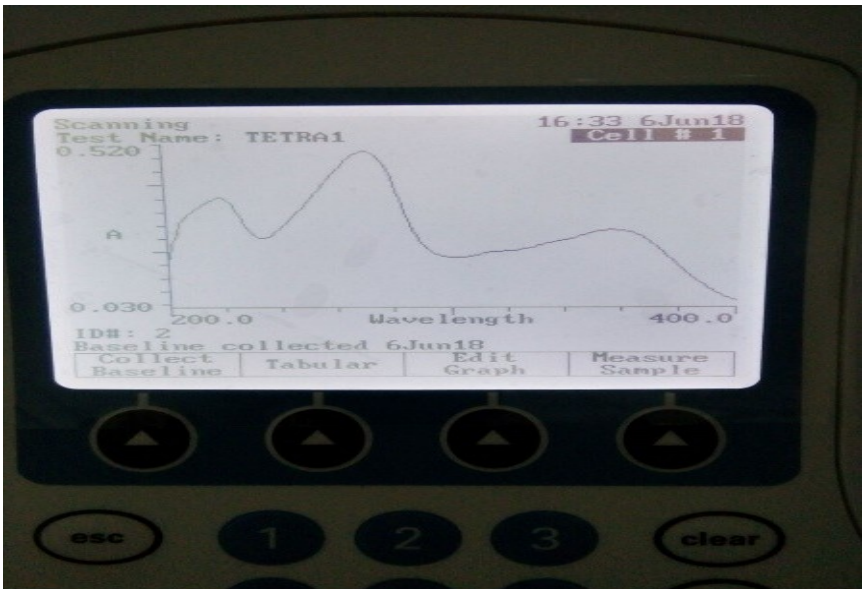
Cs = Konsentrasi larutan standar

Dimana hasilnya lalu dikalikan faktor pengenceran dan volume larutan sampel kemudian dibagi massa sampel yang digunakan.

$$\text{Kadar analit dalam sampel} = \frac{C \times Fpengenceran \times Vsampel}{B\,sampel}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

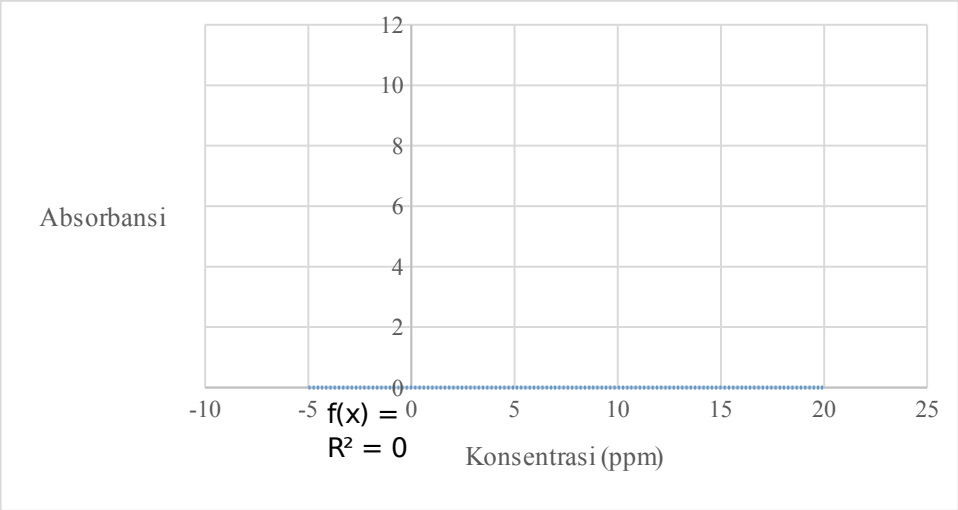
Penentuan residu tetrasiklin HCl pada ikan air tawar, dimulai dari penentuan panjang gelombang maksimum. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum karena pada panjang gelombang tersebut kepekaannya juga maksimum (Botsoglou, N.A. dan Fletouris, D.J., 2001 *dalam* Nurhasnawati, dkk., 2016). Berikut hasil penentuan panjang gelombang standar tetrasiklin HCl yang diukur pada panjang gelombang 200-400 nm.



Gambar 1. Grafik penentuan panjang gelombang maksimum larutan standar tetrasiklin HCl

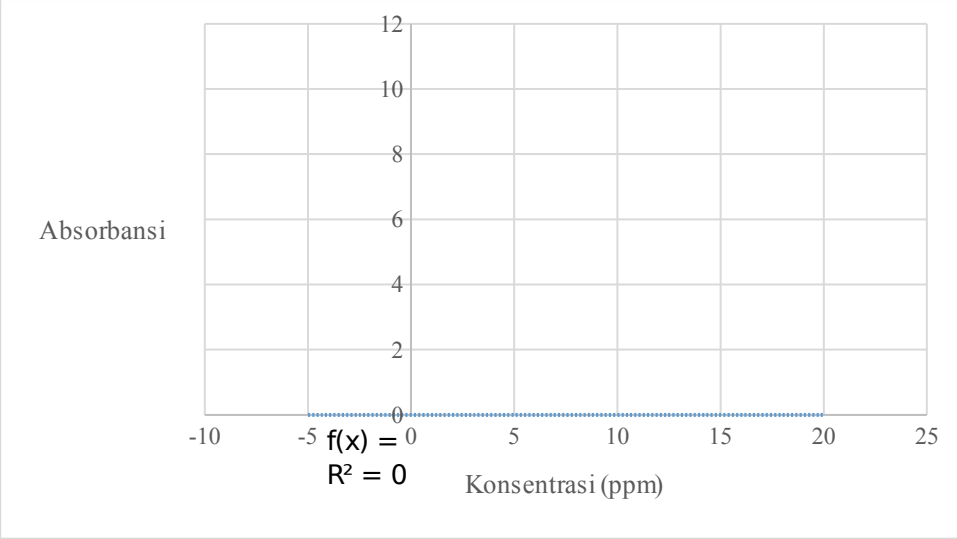
Berdasarkan grafik penentuan panjang gelombang maksimum diatas, dapat diketahui bahwa nilai absorbansi tertinggi sebesar 0,500 pada panjang gelombang 270 nm. Sehingga untuk mengetahui konsentrasi residu tetrasiklin HCl dapat ditentukan dengan mengukur serapan larutan sampel lele pada panjang gelombang 270 nm. Berikut grafik hasil pengukuran absorbansi pada sampel lele replikasi 1 dan pada sampel replikasi 2 pada variasi konsentrasi 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm

.



Gambar 2. Kurva sampel lele (Replikasi 1)

Gambar 2. merupakan kurva sampel lele replikasi 1 antara konsentrasi standar dengan nilai absorbansinya sehingga diperoleh persamaan y = bx + a. Dari persamaan tersebut, maka dapat diketahui nilai konsentrasi residu tetrasiklin HCl dalam sampel yang diukur (Cx). Pada sampel lele 1 nilai Cx = 1,0405 ppm. Setelah diperoleh nilai konsentrasi residu tetrasiklin HCl dalam sampel, maka dapat diketahui kadar residu tetrasiklin HCl dalam sampel lele 1 sebesar 32,5156 ppm.



Gambar 3. Kurva sampel lele (Replikasi 2)

Gambar 3 merupakan kurva sampel lele replikasi 2 antara konsentrasi standar dengan nilai absorbansinya sehingga diperoleh persamaan y = bx + a. Dari persamaan tersebut, maka dapat diketahui nilai konsentrasi residu tetrasiklin HCl dalam sampel yang diukur (Cx). Pada sampel lele 2 nilai Cx = 4,9415 ppm.

Berikut hasil penentuan kadar residu tetrasiklin HCl dalam sampel lele dan sampel mujair seperti yang ditunjukkan dalam **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil penentuan kadar tetrasiklin HCl dalam sampel lele

SAMPEL	Nilai Cx	REPLIKASI 1
Replikasi 1	1,0405	32,5156 ppm
Replikasi 2	4,9415	154,4218 ppm

Tetrasiklin mampu berikatan dengan protein membentuk konjugat sehingga sukar diekstraksi dari matriks sampel (Nurhasnawati, dkk., 2016). Selain itu, ekstraksi tetrasiklin dari sampel daging dapat membentuk kelat antara tetrasiklin dengan ion logam yang terkandung dalam matriks. Sehingga untuk deproteinasinya dipakai pelarut yang sedikit asam untuk membebaskan tetrasiklin yang terikat nonkovalen dengan makromolekul tersebut. Sehingga digunakan buffer McIlvaine-EDTA (pH 4) untuk meningkatkan efisiensi pada ekstraksi sampel karena EDTA mampu bersaing dengan tetrasiklin dalam bentuk kelat dengan logam (Nurhasnawati, dkk., 2016).

Penelitian ini menggunakan teknik adisi standar pada larutan sampel karena teknik ini dapat diaplikasikan untuk menganalisa senyawa yang jumlahnya

sangat kecil (Purnama dan Radila, 2016). Teknik ini dilakukan dengan cara membuat persamaan regresi berdasarkan absoransi masing-masing sampel, kemudian dilakukan ekstrapolasi garis terhadap sumbu x sehingga terjadi perpotongan garis pada sumbu x dan sumbu y. Selain itu, bisa juga menggunakan nilai (y) = 0 sehingga dapat dihitung nilai konsentrasi analit dalam larutan yang diukur (Cx). Setelah itu, nilai konsentrasi analit dikalikan faktor pengenceran dan volume larutan sampel kemudian dibagi massa sampel sehingga diperoleh kadar analit dalam sampel. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kadar residu tetrasiklin dalam sampel lele 1 sebesar 32,5156 ppm dan dalam sampel lele 2 sebesar 154,4218 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel ikan lele yang beredar di pasar Ketintang melebihi batas maksimum residu (BMR) 0,1 ppm, sehingga tidak memenuhi persyaratan yang ditentukan oleh SNI.

SIMPULAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kadar residu tetrasiklin dalam sampel lele 1 sebesar 32,5156 ppm dan dalam sampel lele 2 sebesar 154,4218 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel ikan lele yang beredar di pasar Ketintang melebihi batas maksimum residu (BMR) 0,1 ppm, sehingga tidak memenuhi persyaratan yang ditentukan oleh SNI.

RUJUKAN

Departemen Farmakologi dan Terapeutik. 1979. **Farmakologi Dan Terapi Edisi Ketiga**. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

Nurhasnawati, H., Jubaidah, S., dan Elfia, N. 2016. Penentuan Kadar Residu Tetrasiklin HCl Pada Ikan Air Tawar Yang Beredar Di Pasar Segiri Menggunakan Metode Spektrofotometri Ultraviolet. **Jurnal Ilmiah Manuntung**.Vol. 2 No.2, Halaman: 173-178.

Purnama, R. C., dan Radila, O. 2016. Penetapan Kadar Residu Tetrasiklin Pada Daging Ayam Pedaging Secara Spektrofotometri UV Adisi Standar. **Jurnal Analisis Farmasi**. Vol.1, Halaman: 181-188.