

PENENTUAN KADAR RESIDU TETRASIKLIN HCl PADA IKAN AIR TAWAR YANG BEREDAR DI PASAR SEGIRI MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI ULTRA VIOLET

Submitted : 1 November 2016

Edited : 18 November 2016

Accepted : 30 November 2016

Henny Nurhasnawati, Siti Jubaiddah, Novita Elfia

Akademi Farmasi Samarinda
Email: henny_akfar@yahoo.co.id

ABSTRACT

Tetracycline HCl is one of the most commonly used antibiotics in fish farming that aims to control diseases caused by bacteria. The purpose of this study was to determine the presence and the level of tetracycline HCl antibiotic residue in freshwater fishes sold at the Segiri traditional market. The method used in this research was a standard addition ultraviolet spectrophotometry. The results showed that residue level of tetracycline HCl in freshwater fish is 192,067 µg/g - 257,409 µg/g. These result was far exceeded the maximum residue level of tetracycline class antibiotics in meat and dairy based on SNI 01-6366-2000 that limit the residue not higher than 0.1 µg/g.

Keywords : Fish, Tetracycline HCl residue, Standard addition, UV spectrophotometry.

PENDAHULUAN

Residu obat atau bahan kimia adalah akumulasi obat atau bahan kimia dan atau metabolitnya dalam jaringan atau organ hewan setelah pemakaian obat atau bahan kimia untuk tujuan pencegahan/pengobatan atau sebagai imbuhan pakan untuk memacu pertumbuhan. Residu antibiotik dalam makanan asal hewan erat kaitannya dengan penggunaan antibiotik untuk pencegahan dan pengobatan penyakit serta penggunaannya sebagai imbuhan pakan. Sebagai imbuhan pakan, antibiotika dapat memacu pertumbuhan ternak agar dapat tumbuh lebih besar dan lebih cepat serta dapat mencegah terjadinya infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik yang berlebihan serta tidak dipatuhi waktu henti obat menyebabkan timbulnya residu di dalam daging ternak, telur, susu atau produk ternak

lainnya. Waktu henti adalah kurun waktu dari saat pemberian obat terakhir hingga ternak boleh dipotong atau produknya dapat dikonsumsi⁽¹⁾.

Ikan merupakan sumber protein, lemak, vitamin dan mineral yang sangat baik oleh karena itu ikan banyak dibudidayakan di Indonesia. 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 penyakit baik penyakit infeksi maupun non infeksi. Serangan patogen baik itu virus, bakteri, jamur, protozoa maupun parasit merupakan golongan penyakit infeksi, sedangkan penyakit non infeksi meliputi penyakit yang diakibatkan oleh lingkungan, pakan, genetik dan tumor⁽²⁾. Penularan penyakit dan parasit

dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain melalui kontak langsung antara ikan sakit dan ikan sehat, bangkai ikan sakit maupun melalui air, penularan ini biasanya terjadi dalam satu kolam budidaya. Sehingga untuk menanggulangi penyakit pada ikan budidaya adalah pengobatan dengan zat kimia atau antibiotik.

Antibiotika adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Turunan zat-zat ini, yang dibuat secara semi-sintesis, juga termasuk kelompok ini, begitu pula senyawa sintesis dengan khasiat antibakteri⁽³⁾. Antibiotik terbagi atas beberapa golongan salah satunya ialah tetrasiplin, tetrasiplin merupakan salah satu antibiotik yang paling sering digunakan dalam budidaya ikan yang bertujuan untuk mengontrol penyakit yang disebabkan bakteri⁽⁴⁾.

Menurut SNI 01-6366-2000, kadar residu antibiotik golongan tetrasiplin dalam daging dan susu tidak boleh melebihi 0,1 ppm. Kandungan residu obat yang melewati batas maksimum residu (BMR) yang ditetapkan akan menyebabkan bahan makanan menjadi tidak aman untuk dikonsumsi karena dapat menimbulkan reaksi alergis, keracunan, resistensi mikroba tertentu atau mengakibatkan gangguan fisiologis pada manusia⁽⁵⁾.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya dan kadar residu antibiotik tetrasiplin HCl pada ikan air tawar yang beredar di pasar Segiri. Penelitian ini menggunakan metode spektrofotometri ultra violet secara adisi, karena residu di dalam ikan air tawar sangat kecil dan sulit untuk diukur serapannya sehingga harus ditambahkan larutan standar agar sampel yang akan diuji lebih mudah diukur serapannya.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, blender, botol semprot, erlemeyer, gelas kimia, gelas ukur, hot plate, kaca arloji, labu ukur, magnetic stirrer, neraca analitik, pipet tetes, pipet ukur 10 ml, spatel, spektrofotometer UV (Shimadzu 1800), sentrifugator (PLC Series), tabung reaksi.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, asam klorida, asam sitrat monohidrat (E. Merck), asam nitrat pekat, asam sulfat pekat, besi (III) klorida (E. Merck), dinatrium hidrogen pospat anhidrat (E. Merck), dinatrium EDTA dihidrat (E. Merck), ikan air tawar segar (patin, mas, nila, gabus, lele) tetrasiplin HCl baku.

Cara Kerja

Pengumpulan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan air tawar segar (bukan ikan beku atau yang sudah diolah) yang diambil di Pasar Segiri. Teknik pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling* berdasarkan jenis ikan yang ditentukan oleh peneliti yaitu patin, gabus, mas, nila, lele. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak dua kali yaitu minggu pertama dan minggu kedua bulan Juli 2015 di tempat pedagang ikan yang sama. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu I Akademi Farmasi Samarinda.

Pembuatan Larutan

Larutan HCl 0,1 N

Asam klorida pekat sebanyak 8,4 ml dimasukkan dalam labu ukur 1 L yang telah diisi air suling secukupnya. Kemudian ditambahkan air suling hingga tanda batas.

Larutan Buffer McIlvaine pH 4

Larutan asam sitrat dibuat dengan melarutkan 5,2525 g asam sitrat monohidrat dalam gelas kimia dengan air suling

kemudian dimasukkan dalam labu ukur 250 ml dan ditambah air suling hingga tanda batas. Larutan natrium fosfat dibuat dengan melarutkan dinatrium hidrogenpospat anhidrat sebanyak 7,1025 g dalam gelas kimia dengan air suling selanjutnya dimasukkan dalam labu ukur 250 ml dan ditambah air suling hingga tanda batas. Larutan Buffer McIlvaine dibuat dengan mencampurkan 200 ml larutan asam sitrat dengan 125 ml larutan natrium fosfat, kemudian diukur pH nya (Laboratory Quality Assurance Division, 2007).

Larutan Buffer McIlvaine-EDTA

Dinatrium EDTA dihidrat ditimbang sebanyak 12,98 g dan dilarutkan ke dalam 325 ml buffer McIlvaine (Laboratory Quality Assurance Division, 2007).

Pembuatan Larutan Induk Baku Tetrasiklin HCl

Tetrasiklin HCl ditimbang 25 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 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 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (LIB II) (Laboratory Quality Assurance Division, 2007).

Ekstraksi Sampel

Sampel yang telah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 20 g. Ditambahkan 40 ml Buffer McIlvaine-EDTA (pH 4), lalu di homogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit, supernatan diambil. Ditambahkan 20 ml Buffer McIlvaine-EDTA dan disentrifugasi lagi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan endapan

ditambahkan lagi dengan 20 ml buffer McIlvaine-EDTA dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian dikumpulkan kemudian di sentrifugasi lagi dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Hasilnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan dicukupkan dengan HCl 0,1 N hingga garis tanda, larutan ini disebut larutan sampel (Laboratory Quality Assurance Division, 2007).

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Larutan induk baku (LIB) II 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dipipet sebanyak 2 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Larutan induk baku ditambahkan Asam klorida 0,1 N hingga tanda batas (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$), lalu dikocok sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Diukur serapan pada panjang gelombang 200-400 nm (Laboratory Quality Assurance Division, 2007).

Penentuan Kadar Residu Tetrasiklin HCl dalam Daging Ikan Air Tawar

Larutan sampel dipipet sebanyak 1,6 ml dan dimasukkan ke dalam 5 labu ukur 10 ml. LIB II ditambahkan 0; 1; 1,5; 2; dan 2,5 ml, kemudian diencerkan menggunakan HCl 0,1 N hingga tanda batas. Masing-masing didapatkan Larutan tetrasiklin HCl baku dengan konsentrasi 0; 5; 7,5; 10; dan 12,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Absorbansi dari masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang 272,8 nm. Selanjutnya dibuat grafik absorbansi dan konsentrasi standard ditentukan persamaan regresi linier $y = bx + a$.

Dengan menekstrapolasikan garis pada sumbu X (garis memotong sumbu X) atau mensubstitusikan absorbansi (Y) = 0 pada persamaan regresi yang diperoleh maka akan diperoleh konsentrasi residu tetrasiklin dalam larutan sampel yang diukur (C_x)⁽⁶⁾. Hasilnya lalu dikali faktor pengenceran dan volume larutan sampel kemudian dibagi berat penimbangan sampel daging ikan sehingga diperoleh kadar residu tetrasiklin dengan satuan $\mu\text{g}/\text{g}$ sampel.

Menurut metode adisi standar $C_x = -Cs$, ketika Absorbansi (Y) = 0

$$\text{Kadar analit dalam sampel} = \frac{C_x \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}\right) \times V_t}{B_s \times m_l} \times \frac{1000}{1000} \times \frac{1000}{1000} \times \frac{1000}{1000} \times \frac{1000}{1000} \times \frac{1000}{1000}$$

Keterangan:

C_x = Konsentrasi analit dalam larutan yang diukur

C_s = Konsentrasi larutan standar

(Laboratory Quality Assurance Division, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis kuantitatif merupakan penentuan kadar suatu senyawa kimia yang terkandung dalam suatu bahan. Untuk menentukan kadar tersebut dapat digunakan metode spektrofotometri ultra violet secara adisi standar. Metode ini dipilih karena residu di dalam ikan air tawar sangat kecil dan sulit untuk diukur serapannya sehingga harus ditambahkan larutan standar agar sampel yang akan diuji lebih mudah diukur penyerapannya.

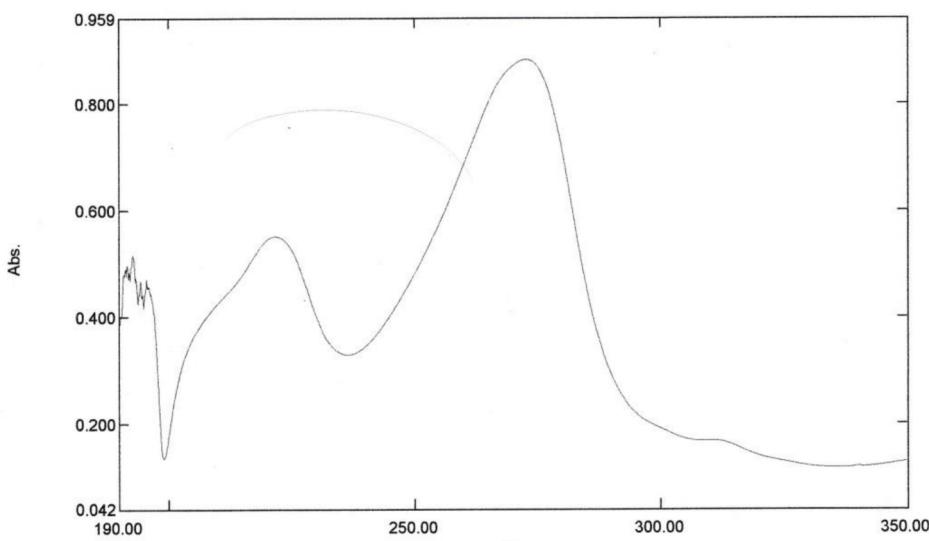
Prosedur ekstraksi sampel diadopsi dari Laboratory Quality Assurance Division (2007), yakni dimulai dari ekstraksi residu tetrasiklin dari sampel daging ikan menggunakan buffer McIlvaine-EDTA. Tetrasiklin mampu berikatan dengan protein membentuk konjugat sehingga sukar diekstraksi dari matriks sampel. Selain itu kendala lain dalam ekstraksi tetrasiklin dari sampel daging yaitu pembentukan kelat antara tetrasiklin dengan ion logam yang terkandung dalam matriks. Sehingga untuk ekstraksi sampel dan deproteinasinya biasanya dipakai pelarut yang sedikit asam untuk membebaskan tetrasiklin yang terikat nonkovalen dengan makromolekul tersebut. Untuk itu dipakai buffer McIlvaine EDTA pH 4, dimana penambahan EDTA dalam larutan buffer dimaksudkan untuk meningkatkan effisiensi ekstraksi, karena

EDTA mampu bersaing dengan tetrasiklin dalam membentuk kelat dengan logam⁽⁶⁾. Ekstraksi daging ikan dalam penelitian ini menggunakan 5 jenis ikan air tawar yaitu, patin, mas, nila, gabus, dan lele.

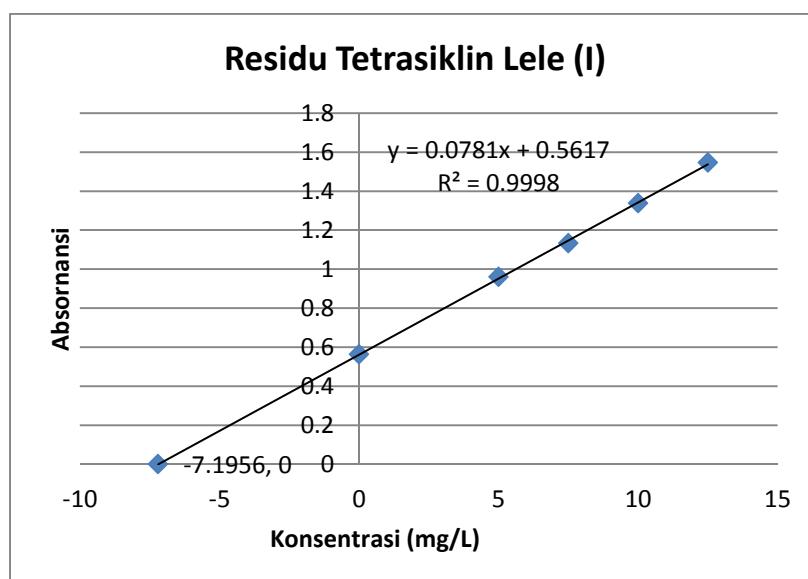
Penentuan residu tetrasiklin HCl pada ikan air tawar dimulai dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum karena pada panjang gelombang tersebut kepekaannya juga maksimum⁽⁷⁾. Pada penelitian ini diperoleh nilai absorbansi tertinggi sebesar 0,882 pada panjang gelombang 272,8 nm dapat dilihat pada gambar 1.

Konsentrasi residu tetasikin ditentukan dengan mengukur serapan larutan sampel pada panjang gelombang 272,8 nm dan hasilnya diplot pada grafik. Salah satu contoh grafik penentuan konsentrasi residu tetasiklin dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada Gambar 2, sumbu X merupakan konsentrasi standar yang ditambahkan sementara sumbu Y menunjukkan nilai absorbansinya. Dengan mengekstrapolasikan garis pada sumbu X (titik potong pada sumbu X) atau mensubstitusikan nilai Y = 0 pada persamaan regresi, maka akan diperoleh konsentrasi analit (concentration of unknown) yang terkandung dalam larutan sampel yang diukur⁽⁵⁾.



Gambar 1. Kurva serapan Sinar UV-Vis Tetrasiklin HCl



Gambar 2. Grafik Penentuan Konsentrasi Residu Tetrasiklin

Kadar residu tetrasiklin pada sampel diperlihatkan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil Penentuan Kadar Residu Tetrasiklin pada Sampel Daging Ikan Air Tawar Pada Sampling Pertama

No.	Sampel	Kadar residu ($\mu\text{g/g}$)	Nilai maksimum residu ($\mu\text{g/g}$)
1	Ikan patin	110,674	
2	Ikan gabus	210,645	
3	Ikan nila	215,468	0,1
4	Ikan mas	198,687	
5	Ikan lele	224,862	

Tabel 2. Hasil Penentuan Kadar Residu Tetrasiklin pada Sampel Daging Ikan Air Tawar Pada Sampling Kedua

No.	Sampel	Kadar residu ($\mu\text{g/g}$)	Nilai maksimum residu ($\mu\text{g/g}$)
1	Ikan patin	225,887	
2	Ikan gabus	211,156	
3	Ikan nila	215,387	0,1
4	Ikan mas	257,518	
5	Ikan lele	377,100	

Berdasarkan data pada tabel di atas, kadar residu tetrasiplin HCl pada pengambilan sampel yang pertama berada pada kisaran 110,674 - 215,468 µg/g dengan rata-rata kadar 192,067 µg/g. Sedangkan pada pengambilan sampel kedua diperoleh hasil antara 211,156 - 377,100 µg/g dengan rata-rata kadar 257,409 µg/g.

Konsumsi makanan asal hewan yang diberikan antibiotik tidak dilarang asalkan berada di bawah batas maksimum residu (BMR). Di Indonesia Dewan Standarisasi Nasional (2000) menetapkan BMR untuk residu tetrasiplin 0,1 µg/g untuk daging dan 0,05 µg/g untuk susu. Hasil penelitian menunjukkan kadar residu tetrasiplin yang jauh melebihi batas maksimum residu yang diperbolehkan.

Antibiotik tidak pernah digunakan untuk pencegahan, antibiotik diberikan kepada ikan untuk mengontrol penyakit yang disebabkan bakteri melalui injeksi, perendaman atau pencampuran obat dengan pakan. Penting untuk diketahui bahwa bakteri bersifat peka terhadap antibiotik, bakteri menjadi resisten terhadap obat apabila terapi antibiotik tidak diberikan dengan takaran yang tepat dan waktu yang semestinya. Kandungan residu obat pada ikan yang menyebabkan bahan makanan menjadi tidak aman untuk dikonsumsi karena dapat menimbulkan reaksi alergi, keracunan, resistensi mikroba tertentu atau mengakibatkan gangguan fisiologis pada manusia⁽¹⁾.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dan analisis data dapat disimpulkan bahwa sampel ikan air tawar yang beredar di Pasar Segiri memiliki residu senyawa antibiotik tetrasiplin HCl dengan kadar 192,067 - 257,409 µg/g yang melebihi batas maksimum residu yang diperbolehkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bahri, S., Masbulan, E., dan Kusumaningsih, A., 2005. Proses Praproduksi sebagai Faktor Penting dalam Menghasilkan Produk Ternak yang Aman untuk Manusia. *Jurnal Litbang Pertanian* 24(I): 27-33
2. Jasmanindar, Y., 2011. Prevalensi Parasit dan Penyakit Ikan air Tawar yang Dibudidayakan di Kota Kupang. Kupang: Universitas Nusa Cendana.
3. Tjay, T.H., Rahardja, K., 2007. Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek Sampingnya. Edisi Keenam. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
4. Slembrouck, J. et al., 2005. Petunjuk Teknis Pemberian Ikan Patin Indonesia. Jakarta: Badan Riset Kelautan dan Perikanan.
5. Harris, D. C., 1987. Quantitative Chemical Analysis. 2nd ed. New York: W. H. Freeman and Company.
6. Laboratory Quality Assurance Division. 2007. Qualitative Identification of Tetracyclines. USA: United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service.
7. Botsoglou, N.A. dan Fletouris, D.J., 2001. Drug Residues in Foods Pharmacology, Food Safety, and Analysis. New York: Marcel Dekker.