VALIDASI METODE *MATRIX SOLID PHASE DISPERSION* (MSPD)- SPEKTROFOTOMETRI UV UNTUK ANALISIS RESIDU TETRASIKLIN DALAM DAGING AYAM PEDAGING

Nofita, Rinawati, H.I. Qudus

Pasca Sarjana Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Lampung

Email : pipit_nft@yahoo.com

Abstract: Method Validation Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD)-Spektrofotometri UV for The Analysis of Residual Tetracycline in Meat Broilers. Tetracycline are antibiotics that have been widely used by poultryman to prevent diseases in dairy broiler chicken. Overuse of these antibiotics may lead to the presence of its residues in animal products including meat. Clinical implication that may occur such as allergy, intoxication, and spesific of antibiotic resistance. Tetracyclines residue in broiler chicken meat can be analyzed with ultraviolet spectrophotometer using standard addition technique. The meat was extracted with Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD) method. Recovery was 84.40% according to standard addition method with acceptable limit 80-110%. Relative standar deviation were 1.36%. The limit of detection were 5.16 µg/ml and limit of quantitation were 5.54 µg/ml. The linearity test presented a correlation coefficient were 0.9997. The analysis of broiler chicken meat from three department store in Bandar Lampung city showed the amount of tetracyclines residue were 42.40 mg/kg; 61.05 mg/kg; and 44.47 mg/kg. These value has exceeded the maximum limit of tetracycline residues in meat according to SNI 01-6066-2000, ie 0.1 mg/kg.

Keywords: Tetracyclines, Broiler chicken meat, MSPD, Ultraviolet Spectrophotometry

Abstrak: Validasi Metode *Matrix Solid Phase Dispersion* (MSPD) Spektrofotometri UV untuk Analisis Residu Tetrasiklin dalam Daging Ayam Pedaging. Tetrasiklin merupakan antibiotik yang umum digunakan sebagai obat-obatan veteriner untuk pencegahan penyakit. Penggunaan yang berlebihan dapat meninggalkan residu dalam produk peternakan tersebut, termasuk daging ayam. Implikasi klinis yang dapat terjadi, antara lain alergi, keracunan, dan resistensi. Residu tetrasiklin dalam daging ayam pedaging dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer ultraviolet dengan teknik adisi standar. Daging ayam diekstraksi lebih dulu menggunakan metode Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD). Hasil uji perolehan kembali berdasarkan metode penambahan standar sebesar 84,40% dengan batas keberterimaan sebesar 80-110%. Penyimpangan baku relatif yang diperoleh 1,36%; batas deteksi dengan konsentrasi 5,16 µg/ml; batas kuantitasi 5,54 µg/ml; dan linieritas dengan nilai koefisien korelasi 0,9997. Hasil uji analisis sampel daging ayam pedaging yang berasal dari tiga pusat perbelanjaan di kota Bandar Lampung menunjukkan bahwa kadar residu tetrasiklin 42,40 mg/kg; 61,05 mg/kg; dan 44,47 mg/kg. Nilai tersebut telah melebihi batas maksimum residu tetrasiklin dalam daging menurut SNI 01-6066-2000, yaitu 0,1 mg/kg.

Kata kunci: Tetrasiklin, Daging Ayam Pedaging, MSPD, Spektrofotometer Ultraviolet

Antibiotika secara luas digunakan dalam dunia peternakan, baik untuk pengobatan, pencegahan penyakit, maupun sebagai tambahan dalam pakan yang mendorong pertumbuhan pada ternak. Hampir semua pabrik pakan menambahkan antibiotik ke dalam ransum jadi (Bahri dkk., 2000).

Penggunaan pakan yang kurang memperhatikan aturan pemberiannya atau penggunaan antibiotik sebagai pengobatan yang tidak sesuai dengan petunjuk, misalnya waktu henti obat tidak dipatuhi menjelang hewan akan

dipotong, akan menyebabkan obat tertinggal di dalam jaringan/organ tubuh, disebut sebagai residu, yang kemudian akan terakumulasi dengan konsentrasi yang bervariasi. Kandungan residu antibiotik yang melewati batas maksimum residu (BMR) yang ditetapkan dapat menyebabkan reaksi alergi, resistensi, dan mungkin keracunan sehingga berbahaya bagi kesehatan manusia (Yuningsih, 2004).

Antibiotika tetrasiklin merupakan salah satu golongan antibiotika yang sering digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi respirasi

kronis yang disebabkan oleh *Mycoplasma gallisepticum*, sinovitis yang disebabkan oleh *Mycoplasma sinovae* dan kolera unggas (*fowl cholera*) pada ayam (Cherlet *et al.*, 2003). Adapun waktu henti pemakaian antibiotik golongan tetrasiklin adalah lima (5) hari menjelang ternak dipotong (Lastari dkk., 1987). Badan Standarisasi Nasional (BSN, 2000) menetapkan BMR yang tercantum dalam SNI 01-6366-2000 menetapkan bahwa batas cemaran residu tetrasiklin yaitu 0,1 mg/kg pada daging.

Residu antibiotik tetrasiklin dalam bahan pangan jumlahnya sangat kecil sehingga diperlukan suatu metode analisis yang baik dan teliti. Pengembangan metode dilakukan untuk mendapatkan nilai perolehan kembali yang lebih baik, serta metode deteksi yang lebih cepat dan teliti. Analisis residu antibiotik tetrasiklin secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) telah dikembangkan oleh Muriurki *et al.* (2001) dan Suryani (2009). Christina (2011) dengan metode yang berbeda melakukan penetapan kadar residu tetrasiklin dalam daging ayam pedaging secara adisi standar dengan spektrofotometri ultraviolet.

Dispersi matriks fase padat atau *Matrix Solid Phase Dispersion* (MSPD) merupakan aplikasi sebagai proses analisis untuk persiapan, ekstraksi, dan fraksinasi sampel biologis padat, semi-padat, atau sampel dengan kekentalan yang tinggi. MSPD didasarkan pada pencampuran mekanis untuk menghasilkan gangguan sampel lengkap dan interaksi matriks sampel dengan padatan pendukung yang terikat pada permukaan sampel. Aplikasi MSPD telah banyak dilakukan untuk analisis makanan (Barker, 2000), juga pernah digunakan untuk analisis residu tetrasiklin dalam daging sapi, susu, dan keju dengan menggunakan KCKT sebagai instrumentasi penetapan kuantitatif (Brandsteterova *et al.*, 1997).

Dilihat dari struktur tetrasiklin yang mempunyai gugus kromofor (ikatan rangkap terkonjugasi) dan gugus auksokrom (gugus hidroksil, amida, dan amina), maka senyawa ini dapat menyerap radiasi pada panjang gelombang di daerah ultraviolet. Menurut Moffat (2004) tetrasiklin memiliki serapan maksimum dalam larutan asam pada panjang gelombang 270 nm dan 356 nm. Metode ini juga mempunyai banyak keuntungan antara lain dapat digunakan untuk analisis suatu zat dalam jumlah kecil, pengerjaannya mudah, sederhana, cukup sensitif dan selektif, biayanya relatif murah dan mempunyai kepekaan analisis cukup tinggi (Munson, 1991).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah penetapan kadar residu pada

daging ayam pedaging dengan menggunakan spektrofotometri ultraviolet secara adisi standar yang memanfaatkan teknik ekstraksi MSPD untuk preparasi sampel memenuhi uji validasi metode. Parameter validasi yang dilakukan meliputi akurasi, presisi, batas deteksi, batas kuantitasi, dan linieritas. Metode ini kemudian dapat dimanfaatkan sebagai monitoring kadar residu tetrasiklin dalam daging ayam pedaging yang sebaiknya rutin dilakukan untuk memastikan keamanan pangan.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental yang mengarah pada pengembangan metode. Tujuannya mengembangkan spektrofotometri ultraviolet secara adisi standar menggunakan tehnik ekstraksi MSPD dalam penetapan residu tetrasiklin dalam daging ayam pedaging. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Oktober 2015 di Laboratorium Kimia Medik Universitas Malahayati.

Sampel yang diperiksa dalam penelitian ini adalah daging ayam pedaging bagian paha yang dijual di tiga pusat perbelanjaan di Kota Bandar Lampung, yaitu *Hypermart (Central Plaza)*, *Chandra (Chandra Supermarket & Department Store Tanjung Karang)*, dan *Giant (Giant Antasari)* yang kemudian disebut sampel A, B, dan C. Sampel yang diambil dalam kondisi segar (bukan daging beku atau yang sudah diolah) kemudian dibersihkan (dibuang kulit dan tulang) dan disimpan dalam lemari pendingin. Sebelum digunakan untuk pemeriksaan, sampel terlebih dahulu dihaluskan dengan *blender*.

Pembuatan Larutan Standar Tetrasiklin HCl BPFI

Sejumlah lebih kurang 25,0 mg tetrasiklin hidroklorida (HCl) BPFI ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, dilarutkan dengan HCl 0,1 N lalu dicukupkan sampai garis tanda dan dikocok homogen, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 µg/ml. Larutan ini disebut larutan standar 1 (LS I). Dari larutan ini dipipet 5,00 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, lalu diencerkan dengan HCl 0,1 N sampai garis tanda sehingga diperoleh konsentrasi 50 µg/ml (LS II).

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Sejumlah 5,00 ml LS II dipipet, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, kemudian

diencerkan dengan HCl 0,1 N sampai garis tanda. Lalu dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 µg/ml. Kemudian diukur serapan pada panjang gelombang 200-400 nm.

Ekstraksi Sampel

Adsorben sebelum digunakan dilakukan pencucian (*washing*) dengan cara membilasnya dengan *n-heksan*, lalu dengan diklorometana, dan terakhir metanol dengan jumlah masing-masing dua kali dari volume *adsorben*. Kemudian keringkan dengan menggunakan vakum.

Adsorben yang telah dicuci tadi ditimbang sebanyak 4,0 g. Kemudian ditambahkan 50 mg asam oksalat dan 50 mg Na₂EDTA, lalu campuran. Sampel yang telah dihaluskan sebanyak 1,0 g di-*homogenisasi* dengan campuran adsorben tadi dengan menggunakan mortir dan *stamper*.

Campuran sampel-*adsorben* dimasukkan ke dalam *syringe* dengan volume 10 ml lalu tekan *cartridge* sampai tanda menunjukkan volume 4,5 ml. Selanjutnya bilas dengan 10 ml *n-heksan*. Setelah itu dilakukan elusi dengan menggunakan campuran *etil-asetat* dan *asetonitril* (3:1) sebanyak 25 ml. Eluat yang dihasilkan kemudian digunakan untuk analisis menggunakan spektrofotometer ultraviolet.

Optimasi Prosedur Ekstraksi

Optimasi dilakukan untuk rasio sampel dan adsorben dengan variasi 1:2; 1:3; dan 1:4 pada sampel A. Penentuan rasio sampel dan adsorben yang akan digunakan untuk penentuan kadar residu tetrasiklin dalam sampel didapatkan dengan menghitung nilai perolehan kembali (%) tetrasiklin baku yang ditambahkan pada sampel. Hasil perolehan kembali yang terbesar yang kemudian rasio sampel dan adsorbennya digunakan untuk prosedur ekstraksi kedua sampel lainnya.

Penentuan Kadar Residu Tetrasiklin dalam Daging Ayam Pedaging

Sebanyak masing-masing 4,00 ml larutan sampel dipipet ke dalam 5 labu ukur 25 ml, tambahkan berturut-turut 0,00; 2,50; 3,75; 5,00; dan 6,25 ml LS II, cukupkan dengan HCl 0,1 N hingga garis tanda sehingga diperoleh masing-masing larutan tetrasiklin baku dengan konsentrasi 0,0; 5,0; 7,5; 10,0; dan 12,5 µg/ml. Absorbansi dari masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang serapan maksimum kemudian dibuat grafik absorbansi versus konsentrasi standar.

Dengan mengekstrapolasikan 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 (Cx). Rumus perhitungan kadar residu tetrasiklin dalam sampel ditulis sebagai berikut.

Kadar residu tetrasiklin dalam sampel (mg/kg)

$$= \frac{Cx (\mu\text{g/ml}) \times \text{Fakt. pengenceran} \times \text{Vol. larutan sampel (ml)}}{\text{Berat penimbangan sampel (g)}}$$

Uji Validasi

Lima parameter validasi metode yang diuji yaitu akurasi, presisi, batas deteksi, batas kuantitasi, dan linieritas. Akurasi dinyatakan dalam persen perolehan kembali (% *recovery*) dengan metode penambahan standar. Presisi dinyatakan oleh simpangan baku relatif (RSD) dari serangkaian data uji perolehan kembali. Batas deteksi menunjukkan konsentrasi terendah analat dalam sampel yang masih dapat dideteksi, dan batas kuantitasi merupakan konsentrasi terendah yang masih dapat dihitung oleh instrumen. Linieritas dinyatakan dalam koefisien korelasi.

HASIL

a. Pemilihan Panjang Gelombang

Gambar 1. Kurva serapan tetrasiklin HCl baku perbandingan Farmakope Indonesia (konsentrasi 10 µg/ml) dalam pelarut HCl 0,1 N.

Puncak 1 pada panjang gelombang 357,5 nm dengan absorbansi 0,288; Puncak 2 pada panjang gelombang 269,4 nm dengan absorbansi

0,409; Puncak 3 pada panjang gelombang 218,8 nm dengan absorbansi 0,290.

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada konsentrasi yang memberikan serapan dengan kesalahan fotometrik terkecil (absorbansi $\pm 0,4343$) (Moffat, 2004). Konsentrasi pengukuran dari perhitungan adalah 10 $\mu\text{g/ml}$ dan absorbansi yang didapatkan yaitu 0,409 dengan panjang gelombang maksimum tetrasiklin hidroklorida (HCl) standar dalam larutan HCl 0,1 N adalah 269,40.

b. Optimasi Prosedur Ekstraksi

Tabel 1. Hasil perolehan kembali tetrasiklin baku yang ditambahkan pada sampel A dengan variasi rasio sampel dan adsorben

No.	Rasio sampel:adsorben	Perolehan kembali (%)
1	1:2	42,14
2	1:3	61,31
3	1:4	84,40

c. Analisis Kuantitatif

Gambar 2. Grafik penentuan konsentrasi residu tetrasiklin dalam larutan sampel A dengan metode adisi standar (ulangan I)

Tabel 2. Hasil penetapan kadar residu tetrasiklin pada sampel daging ayam pedaging

No.	Sampel	Kadar residu tetrasiklin $\pm$ SD (mg/kg)
1	A	42,40 $\pm$ 9,05
2	B	61,05 $\pm$ 3,27
3	C	44,47 $\pm$ 3,92

d. Validasi Metode

Tabel 3. Data absorbansi hasil perolehan kembali tetrasiklin baku yang ditambahkan pada sampel A (perbandingan sampel: adsorben= 1:4)

No.	Kons. Standar	Absorbansi		
		Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III
1	0,00	0,028	0,026	0,026
2	5,00	0,276	0,281	0,277
3	7,50	0,404	0,402	0,405
4	10,00	0,545	0,538	0,538

Tabel 4. Hasil validasi metode

No.	Parameter	Nilai	Standar
1	Akurasi	84,4 %	80-110 %
2	Presisi	1,36%	< 2 %
3	LOD	5,16 $\mu\text{g/ml}$	
	LOQ	5,54 $\mu\text{g/ml}$	
5	Linieritas (r)	0,9995	>0,9995

PEMBAHASAN

Ekstraksi sampel dilakukan dengan menggunakan metode *Matrix Solid Phase Dispersion* (MSPD). Adsorben yang digunakan yaitu ODS (C_{18}) yang bersifat non polar. Namun, sebelum digunakan untuk ekstraksi, adsorben dilakukan pencucian (*washing*) terlebih dahulu untuk memastikan tidak ada pengotor lain yang masih melekat pada adsorben. Pencucian dilakukan dengan melewati tiga jenis pelarut yang berbeda kepolarannya berturut-turut yaitu pelarut nonpolar (n-heksan), kemudian pelarut semipolar (diklorometana), dan terakhir pelarut polar (metanol).

MSPD telah digunakan secara luas dalam proses isolasi tetrasiklin dari matriks biologi. Pemanfaatan MSPD memiliki beberapa keuntungan diantaranya tidak memerlukan pelarut dalam jumlah besar, waktu pengerjaan relatif singkat, dan cukup selektif. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi MSPD, salah satunya adalah rasio sampel dan adsorben. Banyaknya adsorben yang digunakan tergantung pada jenis sampel. Umumnya rasio sampel dan adsorben berkisar antara 1:1 sampai 1:4 (Kristenson *et al.*, 2006). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan optimasi untuk rasio sampel dan adsorben 1:2; 1:3; dan 1:4.

Optimasi ekstraksi dilakukan pada salah satu faktor rasio sampel dan adsorben untuk satu

sampel yaitu sampel A. Setelah proses ekstraksi selesai, analisis dilanjutkan dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet dengan teknik adisi standar. Parameter yang dihitung untuk optimasi adalah nilai perolehan kembali (*recovery*) dari masing-masing rasio sampel dan adsorben. Hasil perolehan kembali tetrasiklin baku yang ditambahkan pada sampel A dengan rasio sampel: adsorben = 1:4 yaitu 84,40% (Tabel 1), jauh lebih besar dibandingkan hasil perolehan kembali dua rasio lainnya. Oleh karena itu, ekstraksi yang dilakukan untuk kedua sampel lainnya menggunakan sampel dan adsorben dengan perbandingan 1:4.

Untuk analisis kuantitatif ditentukan dengan spektrofotometer ultraviolet secara adisi standar. Metode adisi standar dipilih karena mampu meminimalkan kesalahan yang disebabkan oleh perbedaan kondisi lingkungan (matriks) sampel dan standar. Idealnya, kalibrasi standar seharusnya mendekati komposisi dari sampel yang dianalisis, tidak hanya pada konsentrasi analit tetapi juga dalam hal konsentrasi dari elemen lain yang ada dalam matriks sampel, sehingga dapat meminimalkan pengaruh dari berbagai komponen dalam sampel terhadap absorbansi yang terukur (Skoog *et al.*, 1996). Pemanfaatan teknik adisi standar sangat membantu terutama untuk analisis senyawa yang kadarnya kecil (Ramette, 1981).

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 yang terkandung dalam larutan sampel yang diukur (Harris, 1987).

Data kemudian diolah secara statistik untuk melihat apakah hasil perhitungan dari ketiga ulangan dapat diterima atau tidak untuk kemudian dirata-rata. Kadar residu tetrasiklin yang diperoleh dari ketiga pengulangan dihitung nilai penyimpangan bakunya (SD) yang digunakan untuk mendapatkan nilai t_{hitung} . Data kadar dapat diterima apabila t_{hitung} nilainya ada pada rentang $-t_{tabel} < t_{hitung} < t_{tabel}$, dimana t_{tabel} dengan taraf kepercayaan 95% dan derajat kebebasan 2, sehingga diperoleh kadar residu tetrasiklin pada ketiga sampel yang diperlihatkan pada tabel 2.

Menurut SNI 01-6366-2000, kadar residu antibiotik golongan tetrasiklin dalam daging dan susu tidak boleh melebihi 0,1 mg/kg. Namun, hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar residu

tetrasiklin dalam sampel jauh lebih besar dari batas maksimum residu yang diperbolehkan.

Hal tersebut dapat terjadi apabila penggunaan tetrasiklin yang telah dimasukkan dalam ransum pakan diberikan berlebihan sehingga terjadi akumulasi residu tetrasiklin dalam tubuh ternak tersebut. Tetrasiklin juga biasa digunakan sebagai pengobatan beberapa penyakit pada ayam. Jika kemudian ayam tersebut dipotong sebelum waktu henti (*withdrawal time*) obat tetrasiklin, yaitu lima (5) hari untuk hewan termasuk ayam (Lastari dkk., 1987), maka masih ditemukan residu tetrasiklin dalam tubuh ayam itu. Pemakaian antibiotik yang kurang tepat kemungkinan berkaitan dengan pola pemasaran obat hewan di lapangan, yang mana peternak dapat memperoleh obat langsung dari distributor tanpa harus melalui dokter hewan (Bahri dkk., 2005).

Kandungan residu obat yang melewati batas maksimum residu (BMR) yang ditetapkan akan menyebabkan bahan makanan menjadi tidak aman untuk dikonsumsi karena dapat menimbulkan reaksi alergi, keracunan, resistensi mikroba tertentu atau mengakibatkan gangguan fisiologis pada manusia. Kasus gangguan resistensi terhadap bakteri *Campylobacter* yang berkaitan dengan masalah residu antibiotik telah dilaporkan di Amerika Serikat (Bahri dkk., 2005).

Validasi metode juga dilakukan terhadap prosedur yang dikerjakan pada penelitian ini. Tujuan validasi ini adalah untuk menunjukkan bahwa prosedur analitik yang digunakan telah sesuai dengan maksud yang dikehendaki. Validasi merupakan suatu persyaratan dasar untuk menjamin kualitas dan reabilitas hasil dari semua aplikasi analitik (Ermer, 2004). Parameter validasi yang diuji, meliputi akurasi, presisi, batas deteksi, batas kuantitasi, dan linieritas.

1. Akurasi (Ketepatan)

Akurasi prosedur ditentukan dengan menggunakan metode adisi standar (*the method of standard additives*). Metode ini dilakukan pada sampel A dan hasilnya dinyatakan dalam persen perolehan kembali (% *recovery*). Uji perolehan kembali dilakukan untuk mengetahui kemampuan metode dan untuk mengetahui berapa persen analat yang ditambahkan dapat ditemukan. Data absorbansi hasil perolehan kembali dapat dilihat pada tabel 3. Rerata persen perolehan kembali yang didapat 84,40% telah memenuhi syarat karena rentang perolehan kembali yang masih diterima yaitu 80-110% (Botsoglou dan Fletoris, 2001).

2. Presisi (Ketelitian)

Metode analisis yang teliti akan memberikan hasil pengukuran tetap pada setiap waktu dari sampel yang sama. Presisi dinyatakan sebagai standar deviasi (SD) atau standar deviasi relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV). Presisi dikatakan baik jika memiliki nilai simpangan baku relatif kurang dari 2% dengan konsentrasi analit 0-150% (IUPAC, 2002). RSD dihitung dari data perolehan kembali. RSD yang diperoleh yaitu 1,36%. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan telah sesuai dan dapat digunakan untuk analisis residu antibiotik tetrasiklin.

3. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Menurut IUPAC (2002), batas deteksi adalah batas konsentrasi terendah yang masih dapat dideteksi oleh instrumen. Batas deteksi dan batas kuantitasi merupakan ukuran sensitivitas dari instrumen dalam mengukur analit. Pada metode instrumen, batas deteksi ini dinyatakan sebagai konsentrasi analit pada saat rasio *signal-noise* 3:1 ($S/N = 3$) atau mengukur besarnya respon instrumen dari larutan blanko dan menghitung simpangan bakunya (Miller and Miller, 2010).

Pada hasil pengukuran absorbansi sampel A dengan menggunakan teknik adisi standar, konsentrasi standar yang memberikan absorbansi terendah yaitu 5,00 µg/ml. Absorbansi yang dihasilkan masih memasuki rentang absorbansi yang baik yaitu 0,2-0,8 karena pada rentang tersebut hukum Lambert-Beer berlaku dan tingkat kesalahan pembacaan oleh alat adalah yang terkecil. Spektrofotometer ultraviolet tidak dapat membaca dengan baik sinyal yang diberikan dari analit dalam sampel tanpa penambahan standar (blanko), nampak pada absorbansi yang diberikan sangat rendah yaitu kurang dari 0,2. Oleh karena itu, penentuan batas deteksi dilakukan pada konsentrasi penambahan standar 5,00 µg/ml. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa batas terendah analit dapat dideteksi dan dikuantitasi oleh spektrofotometer Uv adalah konsentrasi lebih dari 5 µg/ml, sedangkan analit yang ada dalam sampel A, B, maupun C konsentrasinya berkisar 0,5 µg/ml. Oleh karena itu, teknik adisi standar adalah pilihan tepat untuk menganalisis residu tetrasiklin jika ingin menggunakan spektrofotometer ultraviolet.

4. Linieritas

Linieritas biasanya dinyatakan dalam variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematika menggunakan data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Persamaan dinyatakan dengan rumus $y = ax + b$, dengan a adalah kemiringan garis (slope), b adalah intersep dengan koefisien korelasi 0,9995 (Harmita, 2004).

Koefisien korelasi merupakan ketergantungan faktor sumbu X terhadap sumbu Y. Koefisien korelasi ini dinyatakan dengan koefisien (r) dan merentang dari -1 sampai +1. Koefisien 1 dengan tanda + atau - menunjukkan korelasi sempurna antara dua peubah. Sebaliknya, koefisien nol menunjukkan tidak adanya korelasi sama sekali (Miller and Miller, 2010).

Linieritas dilihat dari pengujian residu tetrasiklin dalam sampel A dengan metode adisi standar. Koefisien korelasi (r) dari 3 kali ulangan yaitu 0,9995; 0,9997; dan 0,9998. Nilai ini telah memenuhi syarat metode yang baik dari segi linieritas, yaitu koefisien korelasi lebih dari 0,9995 (IUPAC, 2002).

SIMPULAN

Metode MSPD-spektrofotometri ultraviolet secara adisi standar dapat digunakan pada penetapan kadar residu tetrasiklin dalam daging ayam pedaging karena memenuhi uji validasi. Metode ini menunjukkan akurasi dan presisi yang cukup baik dengan persen perolehan kembali 84,40%; RSD 1,36%; LOD konsentrasi 5,16 µg/ml; LOQ konsentrasi 5,54 µg/ml; dan linieritas 0,9995; 0,9997; dan 0,9998 dari tiga kali ulangan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar residu tetrasiklin dalam daging ayam pedaging yang diambil dari tiga pusat perbelanjaan di Bandar Lampung berturut-turut adalah 42,40 mg/kg; 61,05 mg/kg; dan 44,47 mg/kg. Kadar residu tetrasiklin dalam ketiga sampel yang diuji melebihi BMR menurut SNI 01-6366-2000 yaitu 0,1 mg/kg.

SARAN

Berkaitan dengan tingginya kadar residu tetrasiklin dalam daging ayam pedaging disarankan kepada instansi terkait untuk memberikan informasi maupun bimbingan teknis kepada peternak ayam pedaging mengenai pentingnya petunjuk penggunaan obat hewan,

baik yang terdapat dalam pakan komersial maupun yang digunakan untuk pengobatan.

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk menekan bahaya potensial yang diakibatkan residu tetrasiklin pada manusia adalah dengan melakukan pemasakan. Adanya pemanasan pada suhu lebih dari 100°C dapat

menginaktivasi sebagian dari residu tetrasiklin yang ada.

Penelitian selanjutnya dapat mencoba menggunakan metode MSPD-spektrofotometri ultraviolet untuk menganalisis residu tetrasiklin dalam serum darah manusia yang mengkonsumsi daging ayam pedaging yang terdapat residu tetrasiklin tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Association of official analytical chemists (AOAC). 2002. *Chlortetracycline, oxytetracycline, and tetracycline in edible animal tissues*. Washington: AOAC Int.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2000. *Batas maksimal cemaran mikroba dan batas residu dalam bahan makanan asal hewan. Dalam Standar Nasional Indonesia Nomor: 01-6366-2000*.
- Bahri S., A. Kusumaningsih, T.B. Murdiati, A. Nurhadi, dan E. Masbulan. 2000. *Analisis kebijakan keamanan pangan asal ternak (terutama ayam ras petelur dan broiler)*. Laporan Penelitian Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan Bogor.
- Bahri S., E. Masbulan, dan A. Kusumaningsih. 2005. *Proses praproduksi sebagai faktor penting dalam menghasilkan produk ternak yang aman untuk manusia*. *Jurnal Litbang Pertanian*. 24(1): 27-33.
- Barker S.A. 2000. *Application of matrix solid-phase dispersion in food analysis*. *J. Chrom. A*. 880: 63-68.
- Botsoglou N.A. and D.J. Fletouris. 2001. *Drug residues in foods: pharmacology, food safety and analysis*. Marcel Dekker Inc. New York. p: 985-987, 582-586.
- Brandsteterova E., P. Kubalec, L. Bovanova, P. Simko, A. Bednarikova, and L. Machackova. 1997. SPE and MSPD as pre-separation techniques for HPLC of tetracyclines in meat, milk and cheese. *Z Lebensm Unters Forsch A*. 205: 311-315.
- Cherlet M., S. Baere, and P. Backer. 2003. *Quantitative analysis of oxytetracycline and its 4-epimer in calf tissues by high-performance liquid chromatography combined with positive electrospray ionization mass spectrometry*. *Analyst*. 128: 871-878.
- Christina. 2011. *Penetapan kadar residu tetrasiklin dalam daging ayam pedaging secara adisi standar dengan spektrofotometri ultraviolet*. Skripsi. Fakultas Farmasi USU Medan.
- Ermer J. 2004. *Method validation in pharmaceutical analysis*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. p: 3-6.
- Harmita. 2004. *Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya*. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3): 117-135.
- Harris, D.C. 1987. *Quantitative chemical analysis*. 2nd Ed. W.H. Freeman and Company. New York. p: 585-586.
- Kristenson E.M., L. Ramos, and U. Brinkman. 2006. *Recent advances in matrix solid-phase dispersion*. *Trends in Anal. Chem*. 25(2): 96-111.
- Lastari P., E. H. Kristyanto, N.I. Pracoyo. 1987. *Analisa residu tetrasiklin dalam ayam broiler*. *Cermin Dunia Kedokteran*. 46: 28-30.
- Miller J.N. and J.C. Miller. 2010. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry for analytical chemistry*. Sixth Edition. Ashford Colour Press. UK.
- Moffat A.C. 2004. *Clarke's isolation and identification of drugs*. 3rd Ed. The Pharmaceutical Press. London.
- Munson J.W. 1991. *Analisis farmasi metode modern*. Penerjemah: Parwa Harjana B. Airlangga University Press. Surabaya. hlm: 334.
- Muriurki F.K., W.O. Ogara, F.M. Njeruh, and E.S. Nitema. 2001. *Tetracycline residue levels in cattle meat from Nairobi salughter house in Kenya*. *J. Vet. Sci*. 2(2): 97-101.
- Ramette R.W. 1981. *Chemical Equilibrium and Analysis*. Addison-Wesley Publishing Company. London. p: 74.
- Skoog D.A., D.M. West, and F.J. Holler. 1996. *Fundamental of analytical chemistry*. 7th Ed. Saunders College Publishing. New York. p: 572-574.
- Suryani D. 2009. *Validasi metode analisis residu antibiotik tetrasiklin dalam daging ayam pedaging secara kromatografi cair kinerja*

- tinggi. Skripsi. Departemen Kimia FMIPA IPB Bogor.
- Yuningsih. 2004. *Keberadaan residu antibiotika dalam produk peternakan (susu dan daging)*. Dalam: *Lokakarya Nasional Keamanan Pangan Produk Peternakan*. Balai Penelitian Veteriner. Bogor. hlm: 48-55.