



**PENGEMBANGAN SENSOR KLORAMFENIKOL BERBASIS
BOVINE SERUM ALBUMIN MENGGUNAKAN
SPEKTROFOTOMETRI UV**

SKRIPSI

Oleh

Sarah Aisha

NIM 122210101078

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**PENGEMBANGAN SENSOR KLORAMFENIKOL BERBASIS
BOVINE SERUM ALBUMIN MENGGUNAKAN
SPEKTROFOTOMETRI UV**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu Fakultas Farmasi dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Sarah Aisha

NIM 122210101078

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang senantiasa memberi petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan dan limpahan kasih-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan serta junjungan besar Nabi Muhammad SAW sebagai panutan hidup;
2. Ibuku Yulianawaty dan Ayahku Mohammad Firdaus yang tiada henti mendukung, memberi semangat, mengiri langkahku dengan doa, kasih sayang, dan terimakasih tiada tara atas segala pengorbanannya;
3. Adikku Ahmad Fikri yang selalu menyemangati dan memberi doa;
4. Bapak, Ibu guru di TK Kartini II, SD Al-Furqan, SMPN 3 Jember, dan SMAN 2 Jember serta Dosen-dosen dan segenap civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bimbingan, dukungan dan ilmunya selama ini;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.
(terjemahan Surat *Al-Insyirah* ayat 6-8)

Harga kebaikan manusia adalah dukur menurut apa yang telah dilaksanakan/diperbuatnya.
(Ali bin Abi Thalib)

Hidup yang tidak teruji adalah hidup yang tidak layak untuk dihidupi. Tanda manusia masih hidup adalah ketika ia mengalami ujian, kegagalan dan penderitaan.
(Socrates)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama: Sarah Aisha

NIM : 122210101078

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengembangan Sensor Kloramfenikol Berbasis *Bovine Serum Albumin* menggunakan Spektrofotometri UV” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 23 Agustus 2016

Yang menyatakan,

(Sarah Aisha)

122210101078

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN SENSOR KLORAMFENIKOL BERBASIS *BOVINE*
SERUM ALBUMIN MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV**

Oleh

Sarah Aisha
NIM 122210101078

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M. Sc., Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : Dwi Koko Pratoko, S. Farm., M. Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengembangan Sensor Kloramfenikol Berbasis *Bovine Serum Albumin* Menggunakan Spektrofotometri UV” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari,tanggal : Selasa, 23 Agustus 2016

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,



Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc.,Ph.D

Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt.

NIP 196902011994031002

NIP 198504282009121004

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,



Lestyo Wulandari, S.Si.,Apt.,M.Farm.

Dian Agung Pangaribowo, S.Farm.,M.Farm.,Apt.

NIP 197604142002122001

NIP 198410082008121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Lestyo Wulandari, S.Si.,Apt.,M.Farm.

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Pengembangan Sensor Kloramfenikol Berbasis *Bovine Serum Albumin* Menggunakan Spektrofotometri UV; Sarah Aisha; 122210101078; 2016; 74 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Budidaya udang telah banyak dikembangkan di Indonesia. Banyaknya kendala yang harus dihadapi para petambak seperti penyakit pada udang baik karena bakteri, virus maupun jamur yang dapat menimbulkan kematian sehingga menurunkan tingkat produksi, membuat budidaya udang tidak mudah untuk dilakukan. Oleh karena itu, untuk mengendalikan penyakit udang terutama yang disebabkan oleh bakteri, maka petambak menggunakan antibiotik seperti eritromisin, tetrasiklin, oksitetrasiklin, nitrofurantoin, golongan sulfonamida dan kloramfenikol. Penyalahgunaan antibiotika tersebut mengakibatkan tertinggalnya bahan kimia sebagai residu dalam daging udang yang dalam jumlah dan waktu lama akan menimbulkan gangguan kesehatan yaitu terjadinya anemia aplastik pada konsumennya, penyebab *grey syndrome* pada bayi dan dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tersebut.

Salah satu antibiotik yang banyak digunakan pada udang adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan suatu golongan antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri. Obat jenis ini mempunyai spektrum kerja yang luas. Kloramfenikol termasuk salah satu dari sembilan jenis bahan tambahan makanan yang dilarang di Indonesia (Permenkes No.1168/Menkes/PER/X/1999). Bahkan WHO (*World Health Organization*) memiliki aturan *zero tolerance* terhadap kandungan kloramfenikol dalam udang. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi dan menentukan kadar kloramfenikol pada udang dari hasil budidaya tambak di Jawa Timur dengan spektrofotometri ultraviolet (UV).

Metode identifikasi kloramfenikol pada udang windu dari hasil budidaya tambak secara spektrofotometer UV dilakukan dengan melihat adanya interaksi antara kloramfenikol dan *bovine serum albumin* (BSA) yang diimobilisasi ke selulosa asetat. Kondisi optimal sensor kloramfenikol menggunakan panjang gelombang maksimum 278 nm, pH optimum 7, konsentrasi BSA 1000 ppm, dan waktu perendaman selulosa asetat 24 jam. Karakteristik sensor kloramfenikol menghasilkan linieritas dengan $r=0,999$, $Vx0=0,895\%$, mempunyai limit deteksi 0,74 ppm dengan limit kuantifikasi 2,21, presisi dengan rata-rata RSD yang memenuhi kriteria sebesar 2,3 serta akurasi dengan % *recovery* yang memenuhi rentang yaitu sebesar 100,29%, namun kurang selektif karena dengan adanya pakan udang dapat mengganggu absorbansi kloramfenikol dengan %interferensi $>5\%$. Sensor dapat diaplikasikan dengan baik ke udang windu yang ada di pasaran dengan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan Sensor Kloramfenikol Berbasis *Bovine Serum Albumin* Menggunakan Spektrofotometri UV”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt. dan Bapak Dian Agung Pangaribowo, S.Farm.,M.Farm.,Apt. selaku Dosen Penguji yang dengan sabar memberikan saran dalam penulisan skripsi ini;
4. Bapak Drs. Wiratmo, M.Sc.,Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu,berbaga pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan, staff dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Jember yang telah membantu penulis selama penelitian;
7. Orang tua tercinta ayah Mohammad Firdaus dan ibu Yulianawaty, adik Ahmad Fikri, serta keluarga besar (Alm.) Abdullah Heidar, dan (Alm.) Kasmiri

Kartabrata yang senantiasa memberikan semangat, doa dan cinta kasih selama ini;

8. Sahabat sekaligus teman seperjuangan, Arimbi Sulistyو dan Dhany Alghifari yang telah menemani dan mendengarkan segala curahan hati serta keluh kesah penulis selama penelitian ini dan atas pengalaman yang tak terlupakan;
9. Teman seperjuangan Chemistry (Citra, Nora, Yayan, Juwita, Hidayah, Yodi, Hafidi, Ozi, Dewi, Alni, Farida, Novialda, Arjun, Helmi, Tsabit, Dea, Vinas, Nazil, Alyu, Mupit, Adel, Agus, dan Arya) serta teman baik Ifa, Maharani, dan Rani Firda ;
10. Teman-teman seperjuangan Petrok Rolass Fakultas Farmasi Universitas Jember.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga kebaikan dan dukungan yang diberikan kepada penulis mendapat balasa dari Allah SWT. Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Agustus 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN.....	iv
SKRIPSI	v
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR PERSAMAAN.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Udang Tambak.....	6
2.1.1 Penyakit Udang	7
2.2 Kloramfenikol.....	8
2.2.1 Karakteristik Kloramfenikol.....	8
2.2.2 Aktivitas Kloramfenikol.....	9
2.2.3 Toksisitas Kloramfenikol	9
2.3 Reagen Sensor.....	11
2.3.1 <i>Bovine Serum Albumin</i>	11
2.4 Sensor Kimia.....	12
2.5 Spektrofotometri UV	13

2.5.1 Instrumen Spektrofotometri.....	14
2.6 Imobilisasi Reagen.....	15
2.6.1 Metode Fisika	16
2.6.2 Metode Kimia.....	17
2.7 Karakteristik Sensor Kimia.....	19
2.7.1 Akurasi	19
2.7.2 Presisi	20
2.7.3 Linieritas.....	21
2.7.4 Daerah Kerja.....	21
2.7.5 Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi (LOD dan LOQ).....	21
2.7.6 Sensitivitas dan Selektivitas	22
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Jenis Penelitian.....	24
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.3 Alat dan Bahan Penelitian.....	24
3.3.1 Alat	24
3.3.2 Bahan.....	24
3.4 Tahapan Penelitian.....	24
3.4.1 Tahap Percobaan	24
3.4.2 Diagram Alir.....	25
3.5 Prosedur Penelitian	26
3.5.1 Pembuatan Dapar Tris-HCL.....	26
3.5.2 Pembuatan Larutan BSA	26
3.5.3 Pembuatan Larutan Standar Kloramfenikol	26
3.5.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	26
3.5.5 Penentuan pH Optimum	26
3.5.6 Optimasi Konsentrasi BSA.....	27
3.5.7 Proses Imobilisasi BSA pada Selulosa Asetat.....	27
3.5.8 Optimasi Waktu Perendaman Selulosa Asetat	28

3.6 Karakteristik Sensor Kimia.....	28
3.6.1 Penentuan Linieritas	28
3.6.2 Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi.....	28
3.6.3 Penentuan Selektivitas.....	28
3.6.4 Penentuan Presisi.....	29
3.6.5 Penentuan Akurasi.....	29
3.7 Aplikasi pada Sampel	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Sensor Berbasis <i>Bovine Serum Albumin</i>	31
4.2 Kondisi Optimal Sensor Kloramfenikol	33
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	33
4.2.2 Optimasi pH tris-HCl	34
4.2.3 Optimasi Konsentrasi BSA.....	35
4.2.4 Optimasi Waktu Imobilisasi BSA	36
4.3 Karakteristik Sensor Kimia.....	37
4.3.1 Linieritas.....	37
4.3.2 Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi.....	40
4.3.3 Penentuan Selektivitas.....	42
4.3.4 Penentuan Presisi.....	43
4.3.5 Penentuan Akurasi.....	44
4.4 Aplikasi pada Sampel	46
BAB 5. PENUTUP	49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Udang Windu	6
Gambar 2.2 Stuktur Kloramfenikol.....	9
Gambar 2.3 Struktur Kristal Bovine Serum Albumin.....	12
Gambar 2.4 Skema Sensor Kimia	12
Gambar 2.5 Skema Instrumen Spektrofotometri UV-Vis.....	14
Gambar 2.6 Rangkaian Pengukuran Sampel.....	18
Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian.....	25
Gambar 3.2 Diagram Alur Proses Imobilisasi Bsa Pada Selulosa Asetat.....	27
Gambar 4.1 Sensor	31
Gambar 4.2 Spektra Larutan	32
Gambar 4.3 Spektra dengan Selulosa Asetat	33
Gambar 4.4 Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	34
Gambar 4.5 Kurva Optimasi pH	35
Gambar 4.6 Kurva Optimasi Konsentrasi BSA	36
Gambar 4.7 Kurva Waktu Imobilisasi BSA.....	37
Gambar 4.8 Spektra Larutan Kloramfenikol dalam Sensor	38
Gambar 4.9 Kurva Linieritas Larutan Kloramfenikol.....	39
Gambar 4.10 Kurva Linieritas Kloramfenikol Dalam Sensor	41

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nilai Persen Perolehan Kembali	19
Tabel 2.2 Rentang Kesalahan yang Diijinkan.....	20
Tabel 4.1 Hasil Uji Linieritas.....	39
Tabel 4.2 Hasil Uji Linieritas LOD-LOQ.....	41
Tabel 4.3 Hasil Uji LOD-LOQ	41
Tabel 4.4 Interferensi	42
Tabel 4.5 Hasil Uji Presisi Repeatabilitas.....	44
Tabel 4.6 Hasil Uji Presisi Intermediet.....	44
Tabel 4.7 Hasil Uji Akurasi	45
Tabel 4.8 Penentuan Kadar Kloramfenikol Dalam Sampel Pasar	46
Tabel 4.9 Hasil Uji Normalitas	48
Tabel 4.10 Hasil Uji T Tidak Berpasangan.....	48

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 2.1 Absorban.....	13
Persamaan 2.2 Deviasi	18
Persamaan 2.3 LOQ	20
Persamaan 2.4 Sinyal Minimum yang Dapat Dideteksi.....	20
Persamaan 2.5 Konsentrasi Minimum yang Masih Dapat Dideteksi.....	20
Persamaan 2.6 Konsentrasi Minimum yang Masih Dapat Dideteksi.....	20
Persamaan 3.1 Simpangan Baku	27
Persamaan 3.2 Koevisien Variasi.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	54
Lampiran B. Penentuan pH Optimum	54
Lampiran C. Optimasi Konsentrasi BSA.....	57
Lampiran D. Optimasi Waktu Perendaman Selulosa Asetat	59
Lampiran E. Karakteristik Sensor Kimia	62
E. 1 Penentuan Linieritas	62
E. 2 Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi.....	63
E. 3 Penentuan Selektivitas.....	64
E. 4 Penentuan Presisi.....	68
E.4.1 Presisi Repeatabilitas.....	68
E.4.2 Presisi Intermediet.....	68
E. 5 Penentuan Akurasi.....	69
Lampiran F. Aplikasi pada Sampel Pasar	71

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang merupakan salah satu produk perikanan yang memiliki aroma yang spesifik dan mempunyai nilai gizi tinggi yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Budidaya udang telah banyak dikembangkan di Indonesia. Udang telah banyak menyumbang devisa negara karena Indonesia memiliki luas lahan yang potensial untuk budidaya udang mencapai 866.550 hektar (Amri, 2003). Sampai tahun 2013, menurut pusat data dan informasi Koalisi Rakyat untuk Keadilan Perikanan (KIARA), luas tambak yang dibangun mengalami peningkatan dari tahun 2008 menjadi 650.509 hektar, sedangkan volume dan nilai produksi tambak nasional masih 320.000 ton, sehingga yang masih dapat ditingkatkan adalah hasil budidaya udang di tambak.

Banyaknya kendala yang harus dihadapi para petambak seperti penyakit pada udang baik karena bakteri, virus maupun jamur yang dapat menimbulkan kematian sehingga menurunkan tingkat produksi, membuat budidaya udang tidak mudah untuk dilakukan. Dalam rangka mengendalikan penyakit udang terutama yang disebabkan oleh bakteri, maka petambak seringkali menggunakan antibiotik seperti eritromisin, tetrasiklin, oksitetrasiklin, nitrofurantoin, golongan sulfonamida dan kloramfenikol (WHO, 2007).

Antibiotik merupakan zat-zat kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup terutama bakteri ataupun melalui sintesis, memiliki efek menghambat pertumbuhan atau mematikan mikroorganisme terutama bakteri. Antibiotik biasa digunakan dalam pemberian terpisah atau lewat pakan dengan tujuan sebagai antisipasi pencegahan penyakit, membunuh mikroorganisme dalam pakan sehingga pakan menjadi lebih awet, memperbaiki sistem pencernaan hewan untuk menjadi lebih efisien, serta meningkatkan nafsu makan ikan dan udang (Utami, 2011).

. Resistensi terhadap antibiotik dapat menimbulkan konsekuensi lain yang lebih fatal diantaranya perpanjangan penyakit (*prolonged illness*), meningkatkan resiko kematian, dan ketika respon terhadap pengobatan menjadi lambat maka memberikan peluang besar bagi galur resisten untuk menyebar (Utami, 2011).

Salah satu antibiotik yang banyak digunakan pada udang adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan suatu golongan antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik), tetapi dalam konsentrasi tinggi terkadang dapat juga bersifat bakterisidal (Kusuma, 2009). Kloramfenikol termasuk salah satu dari sembilan jenis bahan tambahan makanan yang dilarang di Indonesia (Permenkes No.1168/Menkes/PER/X/1999). Bahkan WHO (*World Health Organization*) memiliki aturan *zero tolerance* terhadap kandungan kloramfenikol dalam udang. Peraturan Uni Eropa (UE) No 001/705/EC, yang berlaku sejak 27 September 2001, memutuskan bahwa semua produk udang khususnya hasil budidaya dari negara Asia termasuk Indonesia yang diekspor ke Uni Eropa harus bebas dari kloramfenikol. Sebelumnya, residu kloramfenikol masih ditoleransi sampai 0,5 persen tetapi, dengan peraturan baru ini harus menjadi 0 persen. Beberapa waktu yang lalu isu tentang residu kloramfenikol begitu meluas setelah keluarnya *Commission Decision Uni Eropa* tanggal 27 September 2001 yang menyatakan telah terdeteksi cemaran kloramfenikol sebesar 0,075 ppb pada produk udang ekspor Indonesia yang masuk ke negara Uni Eropa (Setyaningsih, 2004).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka analisis kandungan kloramfenikol dalam udang menjadi sangat penting. Beberapa penelitian tentang analisis residu kloramfenikol telah dilakukan, diantaranya Neuhaus *et al* (2012) yang melakukan analisis kloramfenikol pada udang dengan LC/MS. Metode tersebut memiliki kelemahan seperti preparasi yang lebih rumit, penggunaan reagen yang lebih banyak sehingga tidak mudah untuk dilakukan dan kurang efisien serta aplikasi pada instrumen yang lebih rumit. Penelitian lainnya juga telah banyak dilakukan terutama analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis seperti Kucharska (2000) dan Wafi *et al* (2015). Pada penelitian ini, dilakukan identifikasi dan penentuan kadar

kloramfenikol pada udang dari hasil budidaya tambak di Jawa Timur dengan metode spektrofotometri ultraviolet (UV). Metode spektrofotometri UV dipilih karena pengerjaannya mudah, sederhana, cukup sensitif dan selektif, serta memiliki kepekaan analisis yang cukup tinggi.

Zhang *et al*, (2013) telah melakukan studi interaksi antara kloramfenikol dengan Bovine Serum Albumin (BSA) dimana pada hasil didapatkan bahwa interaksi antara BSA dengan kloramfenikol dapat diidentifikasi menggunakan metode spektrofotometri UV dan fluoresensi. Berdasarkan hal tersebut, maka dapat dilakukan identifikasi kloramfenikol pada udang windu dari hasil budidaya tambak menggunakan spektrofotometri UV dengan teknik imobilisasi BSA pada selulosa asetat dengan memanfaatkan prinsip interaksi antara BSA dengan residu kloramfenikol. Adapun kelebihan membran selulosa asetat ini adalah selain memiliki kinerja yang baik sebagai bahan pendukung dalam desain suatu biosensor, juga memiliki kestabilan yang baik terhadap berbagai macam zat kimia serta memiliki selektivitas yang tinggi sehingga dapat menahan materi yang sangat kecil. Selain itu, reagen yang diimobilisasi dapat digunakan kembali untuk proses yang sama (Syarfiah, 2015). Penggunaan selulosa asetat dalam penelitian ini selain ditujukan dalam rangka efisiensi penggunaan reagen (BSA) yang mahal, teknik ini juga dapat memisahkan analit (kloramfenikol) dari kandungan lain dalam sampel karena ikatannya terhadap BSA yang telah diimobilisasi dalam selulosa asetat. Berdasarkan hal di atas, maka analisis residu kloramfenikol menggunakan metode spektrofotometri UV dengan teknik imobilisasi selulosa asetat dapat dilakukan dengan lebih mudah, murah, sederhana dan selektif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang diperoleh adalah sebagai berikut:

1. Apakah sensor berbasis *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang diimmobilisasi pada selulosa asetat tersebut dapat digunakan untuk deteksi kloramfenikol menggunakan spektrofotometri UV?
2. Bagaimanakah kondisi optimal sensor kloramfenikol tersebut meliputi panjang gelombang, pH, waktu perendaman dan konsentrasi reagen (BSA)?
3. Bagaimanakah karakteristik analitis sensor kloramfenikol tersebut meliputi linieritas, limit deteksi, limit kuantifikasi, presisi, akurasi, dan selektivitas?
4. Bagaimanakah aplikasi sensor kloramfenikol tersebut pada udang yang ada di pasaran?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui apakah sensor berbasis BSA yang diimmobilisasi pada selulosa asetat tersebut dapat mendeteksi kloramfenikol menggunakan spektrofotometri UV.
2. Menentukan kondisi optimal sensor kloramfenikol tersebut meliputi panjang gelombang, pH, waktu perendaman dan konsentrasi reagen (BSA).
3. Menentukan karakteristik analitis sensor kloramfenikol tersebut meliputi linieritas, limit deteksi, limit kuantifikasi, presisi, akurasi, dan selektivitas.
4. Mengetahui aplikasi sensor kloramfenikol tersebut pada udang yang ada di pasaran.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi terkait kemungkinan adanya kandungan kloramfenikol pada udang yang ada di pasaran
2. Mampu mendeteksi kadar kloramfenikol dalam sampel secara cepat, mudah, murah dan akurat

3. Pengembangan teknologi sensor kimia untuk deteksi kloramfenikol pada udang berbasis spektrofotometri UV
4. Sebagai bahan masukan kepada penelitian selanjutnya dalam meneliti masalah udang dan produk olahannya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang Tambak

Udang yang dibudidayakan di tambak adalah udang laut yang umumnya seluruh tubuhnya terbungkus oleh kulit keras yang disebut eksoskeleton. Udang windu merupakan udang yang hampir seluruh hidupnya secara alami berada di laut. Adapun klasifikasi udang windu menurut Soetomo (2000) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Fillum : Arthropoda
Kelas : Malacostraca
Ordo : Decapoda
Famili : Penaeidae
Genus : *Penaeus*
Spesies : *Penaeus monodon*



Gambar 2. 1 Udang windu

Udang windu bersifat *Euryhaline*, yakni secara alami bisa hidup di perairan yang berkadar garam dengan rentang yang luas, yakni 5-45‰. Sifat lain yang juga menguntungkan adalah ketahanannya terhadap perubahan temperatur yang dikenal

sebagai *eurythmal* (Suyanto dan Mujiman, 2004). Kandungan protein pada udang termasuk tinggi yaitu sebesar 21% dan kolesterol rendah karena hanya mengandung lemak 0,2%. Kandungan lainnya pada udang yaitu vitamin A 60 SI/100 g, vitamin B1 0,01 mg, serta kandungan mineral penting seperti zat kapur dan fosfor masing-masing 136 mg dan 170 mg per 100 g bahan (Menegristek, 2013).

Pertumbuhan pada udang merupakan penambahan protoplasma dan pembelahan sel yang terus menerus pada waktu ganti kulit. Secara umum dinyatakan bahwa laju pertumbuhan *Crustacea* merupakan fungsi dan frekuensi ganti kulit dan pertambahan berat badan setiap proses ganti kulit atau *moulting*, dimana terdapat 4 tahap *moulting* yakni tahap pertama proedysis, tahap kedua edysis, tahap ketiga metecdysis dan tahap keempat intermoult (Amri, 2003). Adapun daur hidup udang dibagi menjadi 6 tahap yaitu tahap embrio, tahap larva, tahap juvenil, tahap udang muda, tahap *sub adult* dan tahap dewasa (Yuniarso, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan udang adalah pakan dan lingkungan. Kebutuhan zat pakan pada udang terdiri dari lima kelompok yaitu lemak, protein, karbohidrat, vitamin dan mineral. Dalam usaha budidaya, udang mendapatkan makanan alami yang tumbuh ditambak, yaitu lumut, plankton dan *benthos*. Udang akan bersifat kanibal bila kekurangan makanan. Faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang windu adalah suhu, salinitas, oksigen terlarut, pH, nitrit, dan amonia. Kelangsungan hidup udang dipengaruhi faktor-faktor biotik dan abiotik seperti kompetitor, kepadatan populasi, penyakit, umur, kemampuan adaptasi dan penanganan manusia (Poerwanto, 2014).

2.1.1 Penyakit Udang

Kendala yang dihadapi dalam budidaya udang antara lain masalah penyakit, pertumbuhan udang yang lambat, maupun masalah penurunan kualitas lingkungan budidaya. Masalah penyakit pada udang biasanya adalah vibriosis yaitu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *vibrio harveyi* dan penyakit bercak putih yang

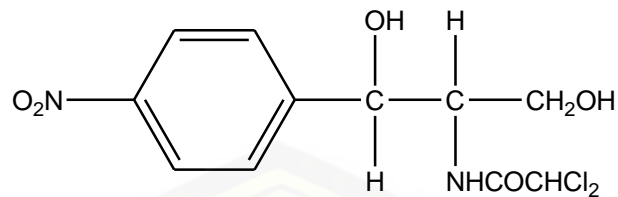
disebabkan oleh *White Spote Syndrome Virus* (WSSV) yang dapat menyebabkan kematian hingga 100% (Widanarni *et al*, 2012). *Vibrio* sp. merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, berifat anerob fakultatif, dan kemoorganotrof. Bakteri ini dapat menyerang udang windu pada tahap larva hingga dewasa. Ugang windu yang terserang *Vibrio* sp. menunjukkan gejala pergerakan yang lambat, terdapat perluasan bintik merah pada kaki jalan dan kaki renang, serta adanya bintik hitam pada bagian insang (Austin dan Austin, 1993).

2.2 Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan suatu antibiotik spektrum luas yang berasal dari beberapa jenis *Streptomyces*. Kloramfenikol pertama kali dipisahkan pada tahun 1947 dari pembiakan *Streptomyces venezuelae* (Kusuma, 2009). Kloramfenikol telah menunjukkan efek samping serius untuk manusia diantaranya depresi sumsum tulang belakang dan anemia aplastik berat. IARC (*The International Agency for Research on Cancer*) pada tahun 2009 telah menetapkan kloramfenikol ke dalam kelas 2A yaitu mungkin karsinogenik bagi manusia. Dosis kecil kloramfenikol masih dapat menimbulkan residu pada jaringan yang berasal dari makanan produk hewan. Alasan tersebut yang menyebabkan penggunaan kloramfenikol pada produk makanan dilarang (Widiastuti dan Anastasia, 2014).

2.2.1 Karakteristik Kloramfenikol

Kloramfenikol memiliki rumus molekul $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ dengan berat molekul 323,13. Pemerian kloramfenikol berupa hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih sampai putih kelabu atau kekuningan; tidak berbau; rasa sangat pahit. Kloramfenikol sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilenglikol, dalam aseton, dan dalam etil asetat. Titik lebur kloramfenikol antara 149-153°C (Depkes RI, 2014).



Gambar 2.2 Struktur kloramfenikol

2.2.2 Aktivitas Kloramfenikol

Antibiotik ini mempunyai spektrum aktivitas antibakteri yang relatif luas. Kloramfenikol bekerja terhadap gram positif maupun gram negatif bakteri secara bakteristatik, yaitu bekerjanya menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri. Konsentrasi tinggi kloramfenikol dapat juga bersifat bakterisidal. Kloramfenikol berkhasiat untuk infeksi yang disebabkan *Salmonella*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Bacillus spp*, *Listeria*, *Bartonella*, *Brucella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Rickettsia*, *Treponema*, dan kuman anaerob seperti *Bacillus fragilitis* (Kusuma, 2009).

Kloramfenikol bekerja menghambat sintesis protein bakteri dan juga sel eukariotik. Obat dapat berpenetrasi dengan mudah ke dalam sel bakteri, kemungkinan dengan proses difusi terfasilitasi. Kloramfenikol juga dapat menghambat sintesis protein mitokondria sel disebabkan karena ribosom mitokondria mirip dengan ribosom bakteri (Yuniarso, 2006).

2.2.3 Toksisitas Kloramfenikol

Penggunaan antibiotik yang berlebihan atau melebihi ambang batas yang ditetapkan akan menimbulkan adanya residu yang dapat membahayakan kesehatan manusia (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Jika terdapat antibiotika pada makanan dan dikonsumsi terus-menerus dapat menyebabkan akumulasi (penimbunan) pada usus yang akan menimbulkan antara lain hambatan, pengurangan dan bahkan

pemusnahan terhadap flora normal usus yang berperan membantu proses pencernaan. Akibatnya akan menimbulkan penyakit atau kelainan dengan reaksi pada saluran cerna yaitu mual, muntah dan diare (Suriawiria, 2002).

Penyalahgunaan kloramfenikol mengakibatkan tertinggalnya bahan kimia sebagai residu dalam daging udang yang dalam jumlah dan waktu lama akan menimbulkan anemia aplastik pada konsumennya. Bahaya penggunaan kloramfenikol terlihat dengan terjadinya depresi sumsum tulang belakang yang menyebabkan diskrasia darah dimana sumsum tulang belakang tidak mampu memproduksi butir darah merah dan pembuatan sel-sel darah merah terganggu sehingga terjadi anemia aplastik atau hipoplastik, trombositopenia dan granulositopenia. Anemia aplastik ditandai kadar Hb lebih rendah dari normal, eritrosit masih muda, bersifat rapuh disebabkan oleh terganggunya sistem hemopoietik. Kloramfenikol yang berspektrum luas dalam jumlah sedikit juga dapat menimbulkan resistensi bakteri yang sebelumnya sensitif (Islamulhayati *et al*, 2005). Efek toksik lain yang jarang terjadi adalah penglihatan kabur dan parestesi digital. Walaupun relatif jarang, kloramfenikol dapat menyebabkan pemerahan pada kulit baik maskular maupun vesikular. Pada saat yang bersamaan terjadi demam, serta dapat menimbulkan resistensi terutama *H.influenza* dan *E.coli* (Wattimena *et al*, 1991).

Kloramfenikol termasuk dalam daftar Bahan Tambah Pangan (BTP) yang dilarang digunakan menurut Peraturan Menteri Kesehatan nomor 033 tahun 2012 dan dalam Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI nomor 39/PERMEN-KP/2015 tentang Pengendalian Residu Obat Ikan, Bahan Kimia, dan Kontaminan Pada Kegiatan Pembudidayaan Ikan Konsumsi, dinyatakan bahwa kandungan kloramfenikol dalam ikan dan udang memiliki Batas Minimum Residu (BMR) sebesar 0.

2.3 Reagen Sensor

2.3.1 *Bovine Serum Albumin*

Serum albumin merupakan protein paling banyak dalam plasma darah dengan konsentrasi 50 g/L dan fungsinya sebagai protein transport untuk berbagai zat endogen dan eksogen. Serum albumin juga memegang peranan penting dalam mengatur tekanan osmotik koloid darah dengan menyediakan sekitar 80% dari tekanan osmotik dan bertanggung jawab dalam pemeliharaan pH dalam darah (Chiat, 2004).

BSA memiliki berat molekul berkisar 66.411-66.700 Da dan nilai terbaik dalam larutan adalah 66.500 Da. BSA merupakan rantai polipeptida tunggal yang memiliki 20 asam amino esensial dalam struktur yang berisi 583 unit (Curvale, 2009). BSA mengandung 17 ikatan disulfida dan berisi satu sistein (*Cys*) tunggal serta delapan pasang ikatan disulfida yang disusun menyerupai HSA (*Human Serum Albumin*). BSA juga mengandung residu *Asp*, *Glu*, *Ala*, *Leu* dan *Lys* yang analog dengan HSA. Terdapat empat residu asam amino (400-403) di urutan BSA yang berbeda yaitu *Gly-Phe-Gln-Asn* (Chiat, 2004).

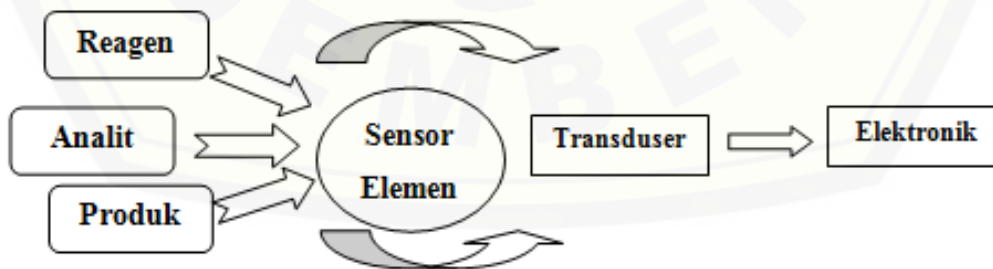
Menurut urutan asam aminonya, menunjukkan bahwa struktur BSA terdiri dari tiga domain homolog yang masing-masing memiliki sekitar 190 residu yang dihubungkan dengan rantai peptida. Serum albumin memiliki afinitas yang tinggi dengan berbagai macam ligan atau molekul bermuatan negatif yang terletak pada daerah ikatan berbeda dalam serum albumin. Sifat yang menarik dari ikatan albumin-ligan adalah adanya beberapa ikatan dengan afinitas tinggi dan beberapa dengan afinitas rendah yang berinteraksi dengan berbagai macam ligan seperti asam lemak, logam, dan lain-lain (Chiat, 2004).



Gambar 2.3 Struktur kristal Bovine Serum Albumin (ncbi.nlm.nih.gov)

2.4 Sensor Kimia

Sensor kimia merupakan suatu alat analisa dengan reagen yang dapat bereaksi dengan analit tertentu dalam larutan atau gas sehingga menghasilkan perubahan fisika-kimiawi (*physicochemical transducer*) yang dapat diubah menjadi sinyal elektrik. Secara skematis sensor kimia ditunjukkan pada gambar 2.4 yang memperlihatkan bahwa sensor kimia melibatkan reaksi kimia spesifik terhadap analit tertentu dengan instrumen yang dapat merubah (trandus) dari perubahan fisika-kimia menjadi sinyal listrik (elektronik) yang mampu dibaca secara analog (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.4 Skema sensor kimia

2.5 Spektrofotometri UV

Spektrofotometri adalah suatu teknik pengukuran analit melalui sinyal yang dikeluarkan berupa spektrum. Teknik ini mengamati interaksi antara atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik (REM). Pada prinsipnya interaksi tersebut akan menghasilkan satu atau dua kemungkinan kejadian diantara hamburan (*scattering*), absorpsi (*absorption*), dan emisi (*emision*) REM oleh atom atau molekul yang diamati. (Mulja, 1995).

Spektrofotometri UV mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet oleh sampel yang memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi (Dachriyanus, 2004).

Spektrofotometri UV dapat digunakan untuk analisa kualitatif dan kuantitatif. Kemampuan suatu senyawa dalam mengabsorpsi sinar UV digunakan sebagai dasar pengukuran kualitatif dan kuantitatif. Setiap molekul analit mampu mengabsorpsi radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang karakteristik. Senyawa organik pada umumnya mempunyai gugusan atom yang dapat mengabsorpsi radiasi UV disebut sebagai kromofor. Pusat serapan sinar ultraviolet ada pada kromofor. Kromofor merupakan suatu gugus kovalen tidak jenuh yang bertanggung jawab untuk serapan elektronik, misalkan C-C, C-O, dan NO₂. Terdapat pula gugus auksokrom, yakni gugus fungsional yang mempunyai elektron bebas seperti -OH, O-NH₂ dan OCH₃ (Andrianto, 2009).

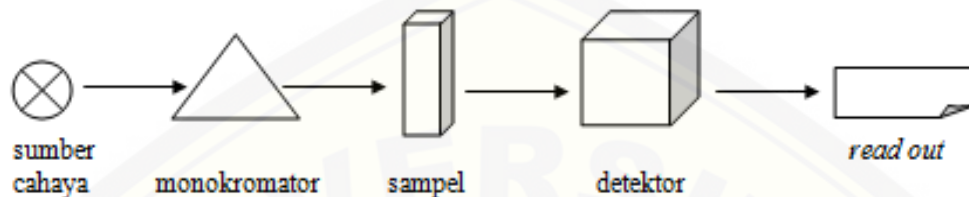
Absorbansi energi direkam sebagai absorban. Absorban pada suatu panjang gelombang tertentu didefinisikan sebagai:

$$A = \log \frac{I_0}{I} \dots\dots\dots (2.1)$$

Dimana, A merupakan absorban, I₀ merupakan intensitas berkas cahaya standart dan I merupakan intensitas berkas cahaya sampel (Triyati, 2012).

2.5.1 Instrumen Spektrofotometri

Secara sederhana instrumen spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari sumber cahaya, monokromator, sampel, detektor, *read out*.



Gambar 2.5 Skema instrumen spektrofotometri UV-Vis

Fungsi masing-masing bagian (Triyati, 2012):

1. Sumber cahaya polikromatis berfungsi untuk pengukuran absorpsi dan harus dapat memancarkan sinar dengan kekuatan cukup untuk penentuan serta pengukuran. Sumber cahaya ultraviolet biasa digunakan lampu hidrogen atau deuterium
2. Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Monokromator harus dapat memisahkan bagian spektrum yang diinginkan dengan bagian lainnya
3. Sampel diletakkan pada sel sampel dimana pada UV menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak. Kuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm. Kualitas data absorban bergantung pada cara pemakaian dan pemeliharaan sel. Sidik jari, lemak atau zat pengotor pada dinding sel akan mengurangi transmisi sehingga sel harus bersih sebelum digunakan.

4. Detektor digunakan untuk menghasilkan sinyal elektrik, dimana sinyal elektrik ini sebanding dengan cahaya yang diserap. Sinyal ini kemudian akan dialirkan ke alat pengukur.
5. *Read out* merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.

Pemakaian spektrofotometer UV dalam analisis kuantitatif mempunyai beberapa keuntungan diantaranya dapat digunakan untuk zat organik maupun anorganik, selektif pada kondisi analisis yang tepat dapat mencari panjang gelombang zat yang dianalisis, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif 1-3% atau lebih kecil, serta pemakaian spektrofotometer ini dapat dilakukan dengan cepat dan tepat (Triyati, 2012).

Faktor-faktor yang sering menyebabkan kesalahan dalam menggunakan spektrofotometer dalam mengukur konsentrasi suatu analit (Dewi *et al*, 2014):

1. Adanya serapan oleh pelarut. Hal ini dapat diatasi dengan penggunaan blanko, yaitu larutan yang berisi selain komponen yang akan dianalisis termasuk zat pembentuk warna.
2. Serapan oleh kuvet. Kuvet yang ada biasanya dari bahan gelas atau kuarsa, namun kuvet dari kuarsa memiliki kualitas yang lebih baik.
3. Kesalahan fotometrik normal pada pengukuran dengan absorbansi sangat rendah atau sangat tinggi, hal ini dapat diatur dengan pengaturan konsentrasi, sesuai dengan kisaran sensitivitas dari alat yang digunakan (melalui pengenceran atau pemekatan).

2.6 Imobilisasi Reagen

Reagen kimia yang digunakan pada suatu sensor kimia harus terhubung baik pada transduser. Proses tersebut dinamakan imobilisasi reagen. Imobilisasi reagen merupakan pengikatan reagen pada material pendukung secara merata sehingga dapat terjadi pertukaran dengan larutan sampel yang terdapat analit untuk dideteksi. Faktor-faktor yang perlu diperhatikan agar imobilisasi berhasil antara lain (Kuswandi, 2010):

- a. Material pendukung harus berinteraksi hanya dengan gugus tertentu (bukan gugus aktif) dari reagen untuk mengikat analit.
- b. Material cukup berpori untuk memfasilitasi terjadinya difusi analit ke reagen
- c. Reagen stabil selama proses imobilisasi berlangsung
- d. Proses pencucian untuk menghilangkan reagen tidak terikat harus tidak berpengaruh pada reagen yang telah diimobilisasi
- e. Material pendukung harus tidak larut dalam air, stabil, dan dapat mengikat reagen cukup kuat pada permukaannya
- f. Karakter mekanis material pendukung harus diperhatikan.

Secara umum imobilisasi reagen terdapat dua jenis metode yaitu fisika, yang meliputi proses penyerapan, pemerangkapan, pangkapsulan dan interaksi elektrostatik, serta metode kimia yang meliputi pembentukan ikatan kovalen dan *crosslinking*.

2.6.1 Metode Fisika

1. Penyerapan (Adsorpsi)

Proses ini mudah dan sangat luas digunakan karena dapat digunakan untuk mengikat berbagai reagen dari material organik sampai anorganik. Namun, adesi reagen pada fasa padat biasanya lebih lemah karena ikatan yang terbentuk selama proses adsorpsi tidak mudah ditentukan. Ikatan hidrogen biasanya terlibat dalam teknik ini. Adsorpsi biasanya digunakan untuk proses dimana reagen diserap oleh material pendukung (adsorben). Tiga jenis adsorben biasanya digunakan dalam imobilisasi reagen, yaitu polimer berpori, material karbon dan material anorganik (Kuswandi, 2010).

Secara umum adsorpsi dibagi dalam dua golongan yaitu adsorpsi fisik (fisorpsi) dimana ikatan yang terbentuk umumnya ikatan van der Waals atau ikatan hidrogen sehingga ikatan ini cukup lemah, serta adsorpsi kimia (kemisorpsi) dimana ikatan yang terbentuk lebih kuat karena melibatkan ikatan kovalen (Kuswandi, 2010).

2. Pengkapsulan (*Enkapsulasi*)

Teknik ini biasa disebut mikroenkapsulasi. Membran semipermeabel digunakan dalam teknik ini untuk memerangkap atau menjerat reagen kimia didalamnya pada permukaan sensor. Material membran yang sering digunakan misalnya PVC (*polyvinylchloride*), selulosa asetat, polikarbonat, dan politetrafluoroetilen (teflon). Biasanya teknik ini cukup stabil terhadap perubahan suhu, pH, kekuatan ion dan komposisi kimia sehingga banyak digunakan dalam pengembangan sensor kimia (Kuswandi, 2010).

3. Pemerangkapan (*Entrapmen*)

Dalam teknik ini reagen dicampur dengan sebuah larutan monomer, yang kemudian mengalami polimerisasi untuk membentuk membran baik berupa gel maupun lapisan tipis film, sehingga reagen tersebut dapat terperangkap didalamnya. Salah satu teknik entrapmen yang berkembang saat ini adalah teknik sol-gel (Kuswandi, 2010).

4. Interaksi Elektrostatik

Interaksi elektrostatik atau ionik biasanya digunakan untuk reagen yang mempunyai muatan negative dengan fase pendukung yang memiliki muatan positif atau sebaliknya. Fase pendukung yang biasanya digunakan dalam teknik imobilisasi jenis ini ialah resin penukar ion (Kuswandi, 2010).

2.6.2 Metode Kimia

Metode kimiawi didasarkan pada pembentukan ikatan kovalen antara molekul reagen dengan gugus aktif atau gugus fungsi dari material pendukung, seperti polimer. Umumnya metode ini melalui beberapa langkah sintesis sehingga mampu menghasilkan reagen stabil dan tahan terhadap *leaching* (Kuswandi, 2010).

1. Ikatan Kovalen

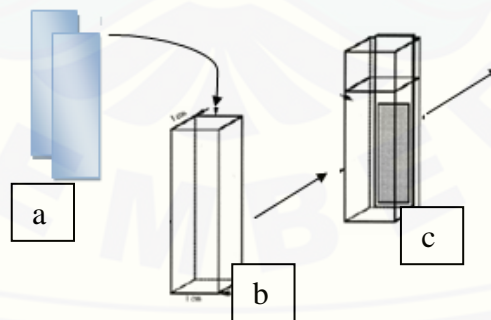
Reaksi kimia yang biasa digunakan untuk imobilisasi adalah sililasi (*silylation*), dimana reagen diikatkan secara ikatan kovalen pada material pendukung secara langsung, misalnya untuk material bersilika, dan reaksi

Mannich, dimana reagen dengan atom hidrogen aktif diikat secara kovalen pada resin gelas pendukung (Kuswandi, 2010).

2. *Crosslinking*

Pada metode ini reagen diikat secara kimia pada membran atau bahan pendukung padat lainnya. Senyawa dengan dua gugus fungsi ini (reagen difungsi) dapat mengikat reagen pada membran atau bahan pendukung lainnya. Kekurangan dari teknik ini adalah kerusakan pada spesifikasi reagen dan hasil *crosslinking* merupakan senyawa yang sangat kaku (Eggins dan Brian, 1996).

Teknik imobilisasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu dengan proses adsorpsi dimana fase padat yang digunakan berupa selulosa asetat untuk mengikat reagen berupa BSA. Selulosa asetat tersebut digunakan sebagai sensor untuk mengukur analit, dalam hal ini kloramfenikol, dengan bantuan instrumen spektrofotometer uv/vis. Pada gambar 2.6 ditunjukkan sensor berupa selulosa asetat yang telah terimobilisasi dengan BSA (a) yang kemudian ditempelkan pada dinding kuvet (b) yang akan dimasukkan sampel dan diukur dengan spektrofotometer uv/vis, sehingga bagian yang terlewati sinar adalah dinding dengan sensor tersebut (c).



Gambar 2.6 Rangkaian pengukuran sampel

2.7 Karakteristik Sensor Kimia

Karakteristik sensor digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu membran dan reagen sebagai sensor untuk mendeteksi analit. Karakteristik sensor ini dapat meliputi akurasi dan presisi, daerah kerja, limit deteksi, *repeatability* dan sensitivitas (Kuswandi, 2010).

2.7.1 Akurasi

Akurasi merupakan kedekatan respon sensor terhadap nilai sebenarnya atau dapat juga diartikan sebagai kesesuaian antara rata-rata respon sensor terhadap nilai yang sebenarnya. Oleh karena itu untuk mengukur akurasi, sering digunakan tingkat kesalahan baik kesalahan absolut (E) maupun kesalahan relatif (Er) (Kuswandi, 2010).

Akurasi sering dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*%Recovery*), yang dapat diperoleh melalui pengukuran sejumlah analit yang diketahui kadarnya yang ditambahkan dalam sampel. Penentuan awal batasan uji perolehan kembali dapat berdasarkan tabel 2.1 (Hariyanto *et al*, 2008).

Tabel 2.1 Nilai persen perolehan kembali

Konsentrasi Analit (%)	Persen Perolehan Kembali (% <i>recovery</i>)
100	98-102
>10	98-102
>1	97-103
>0,1	95-105
0,01	90-107
0,001	90-107
0,0001 (1 ppm)	80-110
0,00001 (100 ppb)	80-110
0,000001 (10 ppb)	60-115
0,0000001 (1 ppb)	40-120

2.7.2 Presisi

Presisi dapat dinyatakan sebagai kedekatan respon sensor terhadap respon lainnya untuk analit yang sama. Presisi juga disebut sebagai kesesuaian dalam pengulangan pengukuran, sehingga sering dinyatakan dengan deviasi dari mean atau rata-rata seperti persamaan berikut:

$$d_i = |x_i - \bar{x}| \dots\dots\dots (2.2)$$

Dimana x_i adalah respon sensor dan \bar{x} adalah rata-rata respon sensor (Kuswandi, 2010).

Repeatability sering dinyatakan sebagai kesesuaian dalam pengulangan respon sensor terhadap analit yang sama, kondisi analisis yang sama dan dalam interval waktu yang pendek, (Harmita, 2004) sehingga sering dinyatakan dalam bentuk standar deviasi (s), baik standar deviasi relatif (RSD) maupun koefisien variasi (CV) (Skoog *et al*, 2000). *Repeatability* sensor terhadap analit dapat digolongkan baik bila kesesuaian respon tersebut antara satu respon dengan respon lainnya yang dinyatakan dengan standar deviasi relatif (RSD) <5% (Cattrall, 1997). Adapun kriteria standar deviasi relatif pada konsentrasi analit yang berbeda dapat dilihat pada tabel 2.2 (Harmita, 2004).

Tabel 2.2 Rentang kesalahan yang diijinkan pada konsentrasi analit yang berbeda

Analit pd matrik sampel, %	RSD %
10	≤ 1,3
> 10	≤ 2,8
> 1	≤ 2,7
> 0,1	≤ 3,7
0,01	≤ 5,3
0,001	≤ 7,3
0,0001 (1 ppm)	≤ 11
0,00001 (100 ppb)	≤ 15
0,000001 (10 ppb)	≤ 21
0,0000001 (1 ppb)	≤ 30

2.7.3 Linieritas

Linearitas adalah sifat hubungan yang linear antar variabel, artinya setiap perubahan yang terjadi pada satu variabel akan diikuti perubahan dengan besaran yang sejajar pada variabel lainnya. Istilah linier mengandung arti bahwa variabel yang dihubungkan berbentuk garis lurus atau sifat hubungan yang linier (Sugiyono, 2010).

Uji linieritas ini dilakukan dengan suatu larutan baku yang terdiri atas minimal 5 konsentrasi yang naik dengan rentang 50-100% dari rentang komponen uji. Kemudian data diproses dengan menggunakan regresi linear sehingga dapat diperoleh respon linier terhadap konsentrasi larutan baku dengan nilai koefisien korelasi diharapkan mendekati 1 atau di atas 0,995 untuk suatu metode analisis yang baik. Sebagai parameter adanya hubungan linier, digunakan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linier $y = bx \pm a$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $b=0$ dan $r= +1$ atau -1 tergantung arah garis. Nilai a pada regresi linier menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita, 2004).

2.7.4 Daerah Kerja

Daerah kerja sensor kimia merupakan daerah atau rentang konsentrasi dimana sensor kimia dapat mendeteksi analit mulai konsentrasi terendah pengukuran dapat dilakukan (LOQ) sampai konsentrasi tertinggi dimana kurva kalibrasi mulai menyimpang dari kelinierannya (LOL) (Kuswandi, 2010).

2.7.5 Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi (LOD dan LOQ)

Limit of Quantification (LOQ) ditentukan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat ditentukan oleh suatu metode pada tingkat ketelitian dan ketepatan yang baik. LOQ dapat dihitung dari persamaan 2.3.

$$\text{LOQ} = \frac{10Sbl}{m} \dots\dots\dots (2.3)$$

Dimana s_{bl} merupakan standar deviasi dari sinyal blanko dan m adalah slop dari kurva kalibrasi. Sedangkan *Limit of Detection* (LOD) merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon yang signifikan. Secara matematis LOD ditentukan dari persamaan 2.4-2.6.

$$S_m = S_{avg,bl} + k s_{bl} \dots\dots\dots (2.4)$$

$$c_m = \frac{S_m - S_{avg,bl}}{m} \dots\dots\dots (2.5)$$

$$c_m = \frac{k s_{bl}}{m} \dots\dots\dots (2.6)$$

Dimana S_m adalah sinyal minimum yang dapat dideteksi, $S_{avg,bl}$ adalah rata-rata sinyal dari blanko, s_{bl} adalah standar deviasi dari sinyal blanko; k adalah nilai perkalian dari variasi dari sinyal blanko (biasanya bernilai 3), sehingga sinyal analit harus lebih besar dari sinyal blanko ($S_{avg,bl}$) dengan perkalian dari faktor (k) dari standar deviasi dari sinyal blanko (s_{bl}). Sedangkan c_m adalah konsentrasi minimum yang masih dapat dideteksi dan m adalah slop dari kurva kalibrasi (Kuswandi, 2010).

LOD dan LOQ ditentukan dari persamaan regresi linear kurva standar rata-rata hasil penentuan linieritas.

2.7.6 Sensitivitas dan Selektivitas

Sensitivitas suatu sensor dapat dinyatakan sebagai kemampuan suatu sensor untuk membedakan konsentrasi analit pada konsentrasi yang sangat kecil. Pada kurva kalibrasi biasanya nilai sensitivitas suatu sensor dapat ditentukan dari nilai slop yang dihasilkan (Skoog *et al*, 2000).

Selektivitas adalah tingkatan dimana suatu metode analisis bebas dari interferensi dari matriks yang terkandung dalam sampel. Selektivitas suatu alat hanya akan mengukur suatu zat tertentu (analit) saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam sampel. Selektivitas dalam analisis instrumen sangatlah penting karena dalam analisis instrumen dihadapkan dengan

matriks yang sangat kompleks, sehingga detektor instrumen dapat selektif dan hanya memberikan tanggapan terhadap sinyal molekul spesifik (Harmita, 2004).

Selektivitas sering kali dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (Harmita, 2004).

Suatu metode dikatakan selektif apabila metode tersebut memberikan respon untuk beberapa senyawa kimia yang dapat dengan jelas dibedakan satu sama lain. Selektivitas juga menunjukkan kemampuan untuk memisahkan analit dari hasil degradasi dan metabolit (Kuswandi, 2010).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bio dan Kemosensor bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Januari 2016 sampai Juli 2016.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-Vis Hitachi U-1800, sentrifugasi Hermle, timbangan analitik OHAUS PAA214, pH meter Denver, selulosa asetat, beaker gelas, labu ukur, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, *ball filler*, botol semprot, batang pengaduk dan pinset.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *bovine serum albumin* (BSA) p.a, kloramfenikol *base*, dapar trisodium sitrat (p.a), aquadest, etanol 96%, HCl 2N, HCl 4N, NaOH, klise film, eritromisin, pakan udang, dan sampel udang windu.

3.4 Tahapan Penelitian

3.4.1 Tahap Percobaan

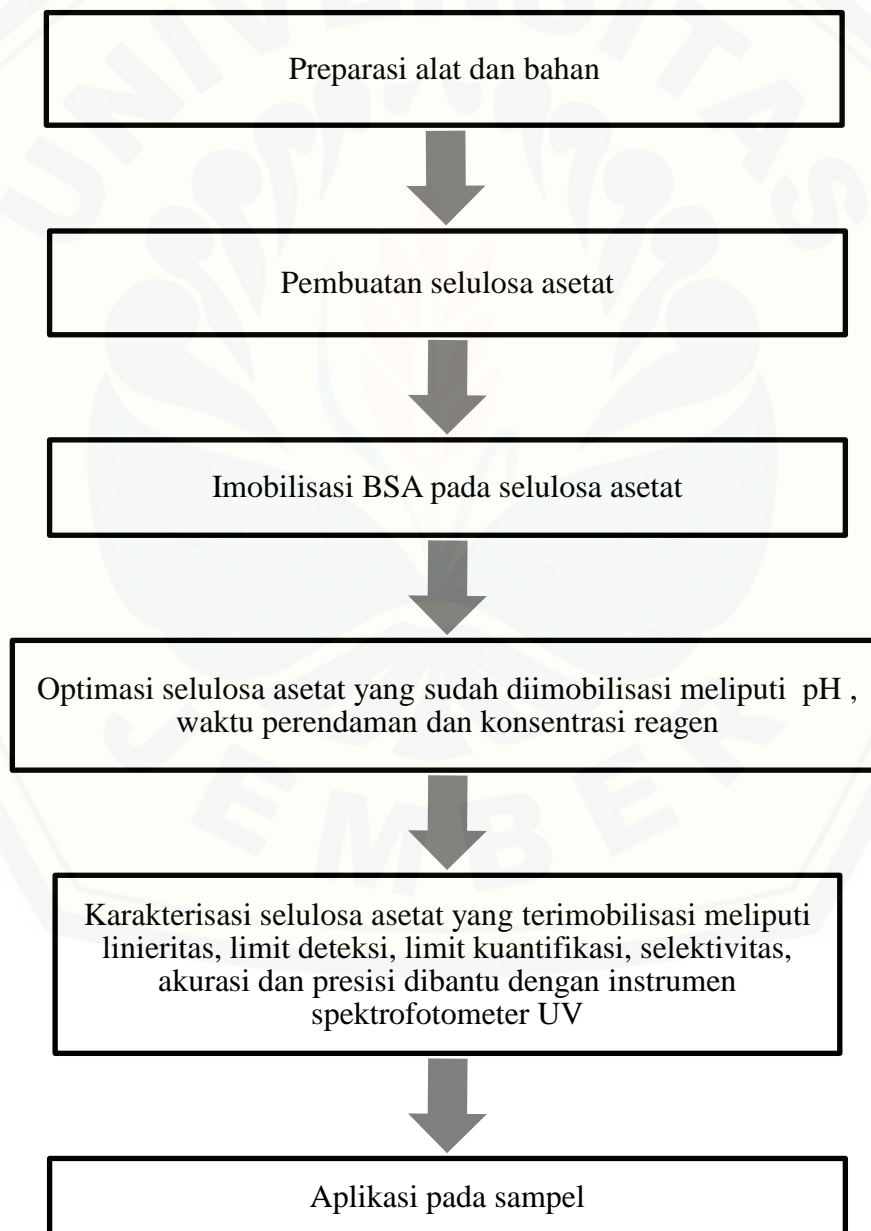
Percobaan ini dilakukan dengan tahapan berikut ini:

1. Fabrikasi selulosa asetat yang akan diimobilisasi dengan reagen
2. Optimasi selulosa asetat yang sudah diimobilisasi meliputi konsentrasi dan pH reagen

3. Karakterisasi selulosa asetat meliputi linieritas, limit deteksi, limit kuantifikasi, selektivitas, akurasi dan presisi
4. Aplikasi pada sampel

3.4.2 Diagram Alir

Adapun skema penelitian yang dilakukan ditunjukkan dalam diagram alur berikut:



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Dapar Tris-HCL

Ditimbang 11,14 g trisodium sitrat dan dilarutkan dalam 1 L aquadest kemudian *diadjust* menggunakan pH meter dengan bantuan NaOH maupun HCl untuk mendapat pH yang sesuai.

3.5.2 Pembuatan Larutan BSA

Ditimbang 25 mg *bovine serum albumin* dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Setelah itu dilarutkan dengan tris-HCl sampai tanda batas, yang akan didapatkan larutan BSA 1000 ppm.

3.5.3 Pembuatan Larutan Standar Kloramfenikol

Ditimbang 25 mg kloramfenikol *base*, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Kemudian tambahkan sedikit etanol dan ditambahkan dapar tris-HCl hingga tanda batas, didapatkan larutan induk kloramfenikol 1000 ppm. Selanjutnya larutan induk dibuat berbagai variasi konsentrasi antara lain 6, 8, 10, 12 dan 16 ppm dengan pengenceran.

3.5.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan kloramfenikol dengan selulosa asetat yang telah diimobilisasi dengan BSA pada panjang gelombang UV (200-400 nm) sehingga diketahui panjang gelombang maksimum.

3.5.5 Penentuan pH Optimum

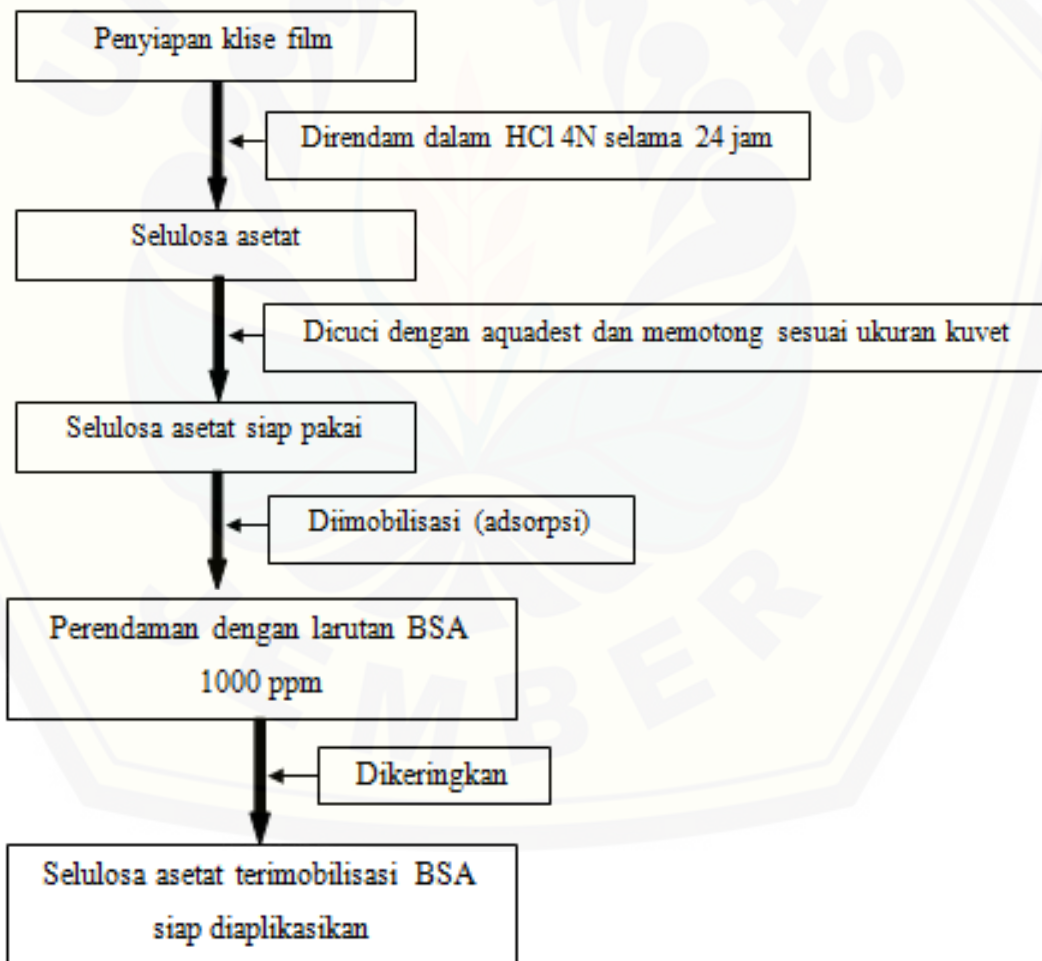
Penentuan pH optimum dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan kloramfenikol 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 16 ppm yang dilarutkan dengan larutan dapar pada pH 6,50; 7,00; 7,40 dan 8,00 menggunakan selulosa asetat yang telah diimobilisasi dengan BSA pada panjang gelombang maksimumnya.

3.5.6 Optimasi Konsentrasi BSA

Penentuan konsentrasi BSA yang optimum dilakukan dengan melihat absorbansi campuran larutan kloramfenikol 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 16 ppm dengan larutan BSA pada seri konsentrasi 10 ppm, 40 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 1000 ppm pada panjang gelombang maksimalnya.

3.5.7 Proses Imobilisasi BSA pada Selulosa Asetat

Adapun proses imobilisasi BSA pada selulosa asetat ditunjukkan sesuai dengan diagram alir berikut:



Gambar 3.2 Diagram alur proses imobilisasi BSA pada selulosa asetat

3.5.8 Optimasi Waktu Perendaman Selulosa Asetat

Optimasi waktu perendaman dilihat sebagai waktu pertama kali reagen (BSA) dapat berikatan dengan selulosa asetat sehingga dapat digunakan sebagai sensor. Optimasi dilakukan dengan mereaksikan (dicelupkan atau direndam) selulosa asetat ke dalam larutan BSA kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimumnya pada waktu 3 jam, 6 jam, 9 jam, 12 jam, 15 jam, 18 jam, 21 jam dan 24 jam.

3.6 Karakteristik Sensor Kimia

3.6.1 Penentuan Linieritas

Linieritas ditentukan dengan cara membuat satu seri konsentrasi larutan kloramfenikol dalam dapar pH optimum menggunakan selulosa asetat terimobilisasi BSA yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum sehingga diperoleh persamaan linieritas.

3.6.2 Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi

Penentuan limit deteksi dan kuantifikasi dilakukan dengan membuat satu seri larutan kloramfenikol dibawah konsentrasi linieritas yaitu 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm yang diukur absorbansinya menggunakan selulosa asetat terimobilisasi BSA pada panjang gelombang maksimum sehingga dapat diperoleh persamaan linieritas. Limit kuantifikasi dapat ditentukan dari kurva kalibrasi yang telah diperoleh dengan menggunakan persamaan 2.3. Sedangkan limit deteksi dapat dihitung sesuai dengan persamaan 2.4-2.6.

3.6.3 Penentuan Selektivitas

Penentuan selektivitas dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan kloramfenikol konsentrasi 6, 8, 10, 12 dan 16 ppm serta larutan kloramfenikol yang ditambah pengganggu yaitu eritromisin 10, 100 dan 1000 ppm serta pakan udang 10,

100, dan 1000 ppm dengan perbandingan 1:1 (ml) menggunakan selulosa asetat terimobilisasi BSA pada panjang gelombang 278 nm. Dihitung selisih absorbansi dan interferensinya.

3.6.4 Penentuan Presisi

Sampel untuk penentuan presisi dipreparasi dengan cara menghaluskan udang yang telah dibersihkan, kemudian ditimbang 3 gram dan dimasukkan dalam tabung sentrifugasi, ditambahkan 6 ml etanol dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Filtrat yang diperoleh dipindahkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan tris HCl pH 7,0 ad tanda. Larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan sensor dan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 278 nm. Dilakukan replikasi sebanyak 6x dalam satu hari untuk presisi repeatabilitas dan replikasi 6x dalam 3 hari berbeda untuk presisi intermediet. Selanjutnya dihitung simpangan baku (SD) dan simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV) dengan persamaan 3.1 dan 3.2.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum |X - \bar{X}|^2}{n-1}} \dots\dots\dots (3.1)$$

$$CV = \left[\frac{SD}{x} \right] 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

3.6.5 Penentuan Akurasi

Akurasi pada penelitian ini ditentukan menggunakan metode adisi atau penambahan baku. Sampel dipreparasi dengan cara dibersihkan dan dihaluskan, kemudian ditimbang sebanyak 3 gram dan dimasukkan ke tabung sentrifugasi. Ditambahkan etanol 6 ml dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Filtrat yang diperoleh dimasukkan labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan standar kloramfenikol sebesar 30%, 45% dan 60% dan ditambahkan tris-HCl pH 7,0 ad tanda. Larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan sensor dan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 278 nm. Masing-masing direplikasi sebanyak 3x. Selanjutnya dihitung nilai persen perolehan kembali (%RSD).

3.7 Aplikasi pada Sampel

Aplikasi selulosa asetat untuk deteksi kloramfenikol dilakukan dalam sampel udang windu yang diperoleh dari tambak dan yang ada di pasaran. Preparasi sampel dilakukan dengan menimbang 3 g sampel yang telah dibersihkan, haluskan bersama dengan 6 ml etanol. Lapisan atas atau filtrat yang terbentuk diambil kemudian ditambahkan dengan tris-HCl ad 10 ml. Setelah campuran homogen kemudian dimasukkan ke dalam kuvet yang sudah ditempelkan selulosa asetat terimobilisasi BSA pada dindingnya untuk kemudian dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis.

Dilakukan juga pengukuran tanpa menggunakan selulosa asetat sebagai pembanding. Penetapan kadar kloramfenikol dalam sampel dilakukan dengan memasukkan nilai absorbansi yang diperoleh ke dalam persamaan regresi. Hasil yang diperoleh dari kedua metode yaitu dengan selulosa asetat dan tanpa selulosa asetat diolah menggunakan *SPSS statistics 17.0*.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Sensor kloramfenikol berbasis *bovine serum albumin* menggunakan spektrofotometri UV dapat digunakan untuk analisis kloramfenikol pada udang windu berdasarkan ikatan kloramfenikol terhadap BSA.
2. Kondisi optimal sensor kloramfenikol yaitu menggunakan panjang gelombang maksimum 278 nm ; pH optimum 7,0 ; konsentrasi BSA 1000 ppm dan waktu perendaman selulosa asetat selama 24 jam.
3. Karakteristik sensor kloramfenikol memberikan hasil linier dengan $r=0,999$; LOD-LOQ=0,74-2,21 ; presisi dengan RSD rata-rata 2,3 ; akurat dengan %perolehan kembali 100,29 namun kurang selektif.
4. Sensor dapat diaplikasikan pada udang windu di pasaran yang memberikan hasil tidak berbeda bermakna dengan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu terdapat kloramfenikol pada sampel 1,2 dan 3.

5.2 Saran

Sensor kloramfenikol berbasis *bovine serum albumin* menggunakan spektrofotometri UV masih dapat dikembangkan dengan beberapa saran berikut:

1. Pengembangan metode validasi lain seperti reproduibilitas, ketangguhan (*ruggedness*), kekuatan (*robustness*) maupun uji SST (*System Suitability Test*) agar metode ini dapat digunakan kapanpun, dimanapun dan dalam kondisi apapun
2. Pengaruh perubahan suhu terhadap sensor
3. Penggunaan sampel lain pada aplikasi sampel nyata
4. Modifikasi untuk skala industri sehingga dapat digunakan secara luas

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2012. Crystal Structure of Bovine Serum Albumin. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/icn3d/full.html?complexity=3&buidx=1&showseq=1&mmdbid=96253> [16 Mei 2016].
- Amri, K. 2003. *Budidaya Udang Windu Secara Intensif*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- Andrianto, Y. C. 2009. “Validasi Metode Penetapan Kadar Campuran Parasetamol dan Ibuprofen secara Spektrofotometri UV dengan Aplikasi Metode Panjang Gelombang Berganda”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Austin, B. dan Austin, D.A. 1993. *Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish*. 2nd Edition. England: Ellis Horwood limited.
- Catrrall, R.W. 1997. *Chemical Sensor*. Oxford: Oxford University Press.
- Chiat, H. T. 2004. “X-Ray Crystallographic Studies of Bovine Serum Albumin and Helicobacter pylori Thioredoxin-2”. Tidak Diterbitkan. Tesis. Canada: Department of Chemistry University of Saskatchewan.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik secara Spektroskopi*. Padang: Andalas University Press.
- Depkes RI. 2014. *Farmakope Indonesia*, Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi, H. S., Eryka, T., Akuf, S. W., dan Wahyuni, N. 2014. “UV-Vis Spektrofotometri”. Tidak Diterbitkan. Makalah Jakarta: ISTN.
- Eggins dan Brian. 1996. *Biosensor an Introduction*. New York: John Wiley and Sons.
- Hariyanto, G., Kardono, L., dan Mansyur, U. 2008. Validasi Metode Penetapan Kadar Dehidrolovastatin dalam Plasma *In Vitro* dengan KCKT. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 5 (2): 75-83.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 1 (3): 117-135.

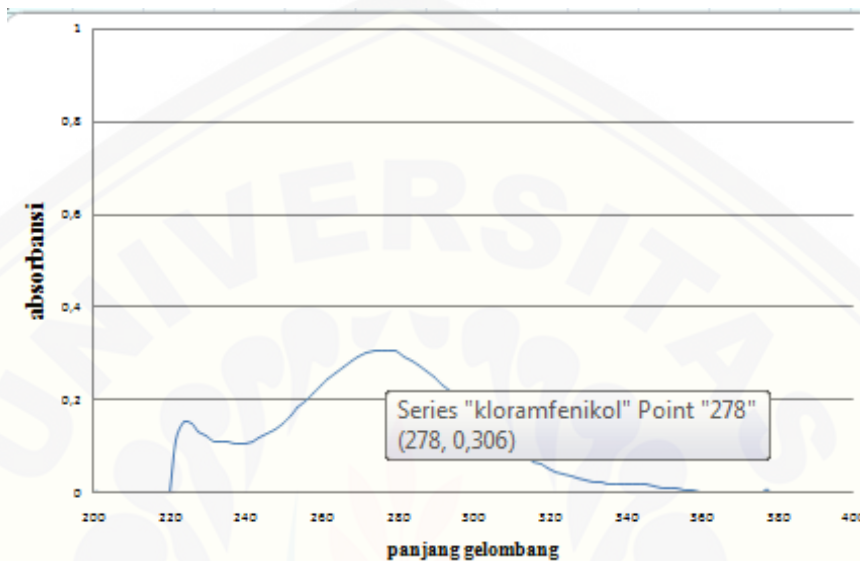
- Indrayanto, G dan Yuwono, M. 2003. *Validation of TLC Analyses in Encyclopedia of Chromatography*. Surabaya: Airlangga University Indonesia.
- Islamulhayati, Keman, dan Yudhiastuti. 2005. Pengaruh Residu Kloramfenikol dalam Udang Windu Terhadap Kejadian Anemia Aplastik pada Mencit. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. Vol. 1 (2): 88-109.
- Kucharska, U., dan Leszczynska, J. 2000. "The Use of Elisa Method for The Determination of Chloramphenicol in Food Products of Animal Origin". *Chem. Listy*. Vol. 94: 190-194.
- Kusuma, S. 2009. "*Staphylococcus aureus*". Tidak Diterbitkan. Makalah. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Kuswandi, B. 2010. *Sensor Kimia Teori, Praktek, dan Aplikasi*. Jember: Jember University Press.
- Li, Q., Zhang, T., dan Bian, L. 2016. "Recognition and Binding of β -Lactam Antibiotics to Bovine Serum Albumin by Frontal Affinity Chromatography in Combination with Spectroscopy and Molecular Docking". *Journal of Chromatography B*. Vol. 1014: 90-101.
- Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. 2013. Budidaya Udang <http://www.migroplus.com/brosur/Budidaya%20udang.pdf> [11 Mei 2016].
- Menteri Kelautan dan Perikanan. 2014. *Kelautan dan Perikanan dalam Angka 2014*. Jakarta: Menteri Kelautan dan Perikanan.
- Mulja. 1995. *Analisis Instrumental*. Depok: Perpustakaan Departemen FMIPA UI.
- Neuhaus, B., Hurlbut, J., dan Hammack, W. 2012. "LC/MS/MS Analysis of Chloramphenicol in Shrimp" *FDA/ORA/DFS*. No. 4290: 1-8.
- Poerwanto, E. 2014. "Pengontrol Kualitas Air Tambak Menggunakan Metode Fuzzy Logic dan Kontrol On-Off Untuk Budidaya Udang Windu". Tidak Diterbitkan. Tesis. Surabaya: STIKOM
- Rahman, A. 2011. "Udang Windu". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Medan: USU

- Setyaningsih, I. 2004. *Resistensi Bakteri dan Antibiotik Alami dari Laut*. Makalah Falsafah Sains. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Siswandono dan Soekardjo. 2000. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Penerbit Airlangga University Press.
- Skoog, D.A., Holler, H., dan Nieman. 2000. *Principles of Instrumental Analysis*. 5th edition. New York: Saunders.
- Soetomo, M. 2000. *Teknik Budidaya Udang Windu (Penaeus monodon)*. Yogyakarta: Kansius.
- Sugiyono. 2010. *Statistika Untuk Penelitian*. Bandung: Alfabeta.
- Suriawira, H. 2002. *Mikroba Tanah dan Kloramfenikol*. Bandung: Humaniora Utama Press.
- Suyanto, S. dan Mujiman, A. 2004. *Budidaya Udang Windu*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Syarfiah. 2015. "Desain Biosensor Enzimatis dengan Variasi Komposisi Membran Selulosa Asetat untuk Analisis Pestisida Klorpirifos". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Kendari: FMIPA Universitas Halu Oleo.
- Triyati, E. 2012. "Spektrofotometer Ultraviolet dan Sinar Tampak serta Aplikasinya dalam Oseanologi". *Oseana*. Vol. 10 (1): 38-47.
- Utami, E. 2011. "Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi". *El-Hayah*. Vol. 1 (4): 191-198.
- Wafi, A., Supriyanto, G., dan Srie, T. 2015. "A Novel Spectrophotometric Method for Determination of Chloramphenicol Based on Diazotization Reaction at Room Temperature". *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Vol. 7(3): 272-277.
- Wattimena J.R, Sugiarto N.C., Widiyanto M.B., Sukandar E.Y., Soemardji A.A., dan Setiabudi A.R. 1991. *Farmakologi dan Terapi Antibiotik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- WHO. 2007. *Cancer Control Knowledge Into Action*. Geneva.

- Widanarni, Wahjuningrum, dan Puspita. 2012. “Aplikasi Bakteri Probiotik Melalui Pakan Buatan untuk Meningkatkan Kinerja Pertumbuhan Udang Windu *Penaeus monodon*”. *Jurnal Sains Terapan*. Vol. 2 (1): 32-49.
- Widiastuti, R. dan Anastasia, Y. 2014. “Deteksi Residu Kloramfenikol pada Daging Sapi Menggunakan Kromatografi Cair Spektrometri Masa”. *JITV*. Vol. 19 (1): 74-79.
- Yuniarso, T. 2006. ”Peningkatan Kelangsungan Hidup, Pertumbuhan, dan Daya Tahan Udang Windu (*Penaeus monodon*)”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surakarta: FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Zhang, J., Chen, L., Zeng, B., Kang, Q., dan Dai, L. 2013. “Study on the Binding of Chloroamphenicol with Bovine Serum Albumin by Fluorescence and UV–Vis Spectroscopy”. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Vol. 105: 74–79.

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. PENENTUAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM



LAMPIRAN B. PENENTUAN pH OPTIMUM

- Pembuatan Larutan Kloramfenikol

$$\text{Larutan induk } 1000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 1000 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan induk } 100 \text{ ppm} \rightarrow \frac{10 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$6 \text{ ppm} \rightarrow \frac{3 \text{ ml}}{50 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 6 \text{ ppm}$$

$$8 \text{ ppm} \rightarrow \frac{2 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 8 \text{ ppm}$$

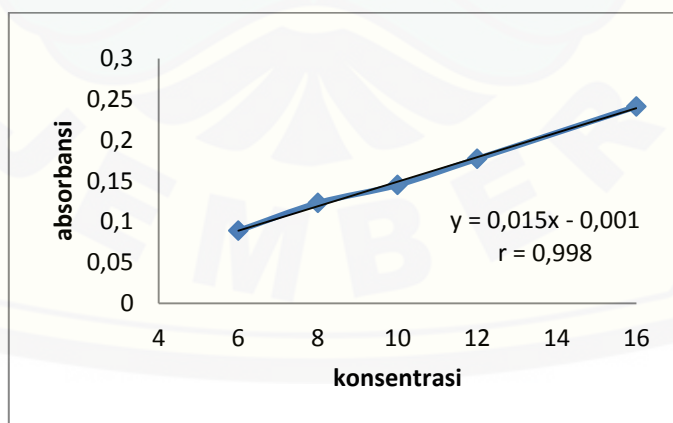
$$10 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

$$12 \text{ ppm} \rightarrow \frac{3 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 12 \text{ ppm}$$

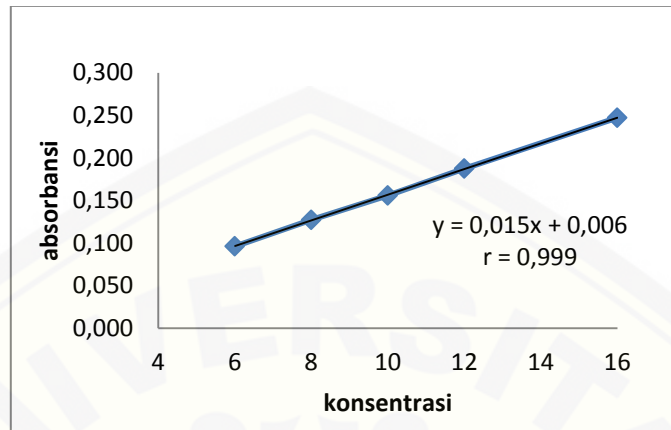
$$16 \text{ ppm} \rightarrow \frac{4 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 16 \text{ ppm}$$

pH	Konsentrasi	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Absorbansi rata-rata
6,5	6	0,089	0,088	0,089	0,089
	8	0,122	0,123	0,124	0,123
	10	0,145	0,145	0,146	0,145
	12	0,177	0,176	0,178	0,177
	16	0,242	0,241	0,241	0,241
7	6	0,096	0,096	0,097	0,096
	8	0,127	0,128	0,127	0,127
	10	0,155	0,156	0,157	0,156
	12	0,187	0,188	0,188	0,188
	16	0,247	0,247	0,248	0,247
7,4	6	0,111	0,110	0,110	0,110
	8	0,141	0,141	0,140	0,141
	10	0,173	0,172	0,171	0,172
	12	0,195	0,195	0,196	0,195
	16	0,253	0,254	0,252	0,253
8	6	0,095	0,098	0,096	0,096
	8	0,126	0,127	0,126	0,126
	10	0,154	0,155	0,153	0,154
	12	0,193	0,197	0,190	0,193
	16	0,248	0,249	0,247	0,248

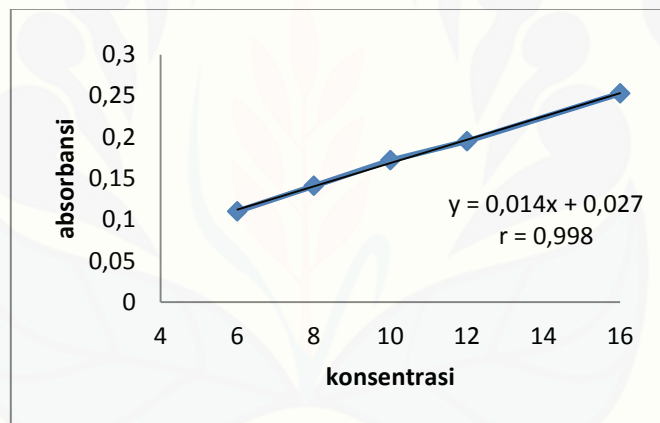
- Kurva pH 6,0



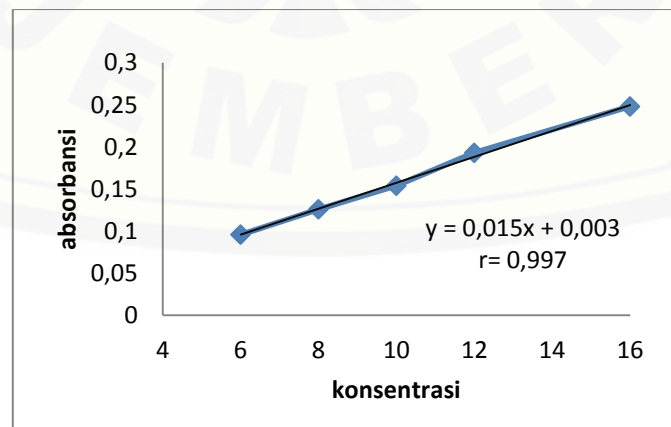
- Kurva pH 7,0



- Kurva pH 7,4



- Kurva pH 8,0



LAMPIRAN C. OPTIMASI KONSENTRASI BSA

- Pembuatan Larutan BSA

$$\text{Larutan induk } 2000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 = 2000 \text{ ppm}$$

$$20 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

$$80 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

$$200 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

$$400 \text{ ppm} \rightarrow \frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 400 \text{ ppm}$$

- Pengenceran BSA

$$10 \text{ ppm} \rightarrow \frac{2 \text{ ml}}{4 \text{ ml}} \times 20 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

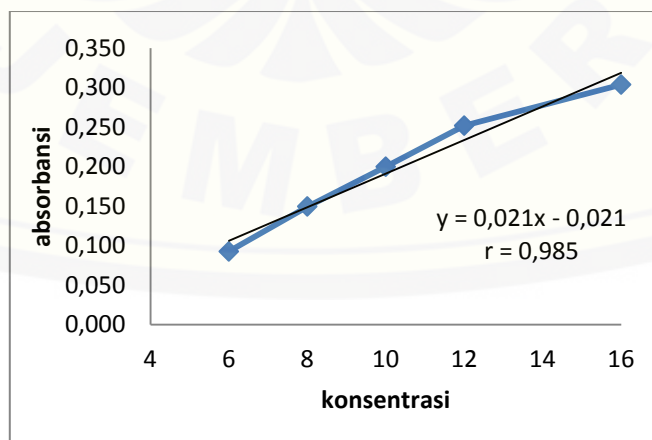
$$40 \text{ ppm} \rightarrow \frac{2 \text{ ml}}{4 \text{ ml}} \times 80 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} \rightarrow \frac{2 \text{ ml}}{4 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

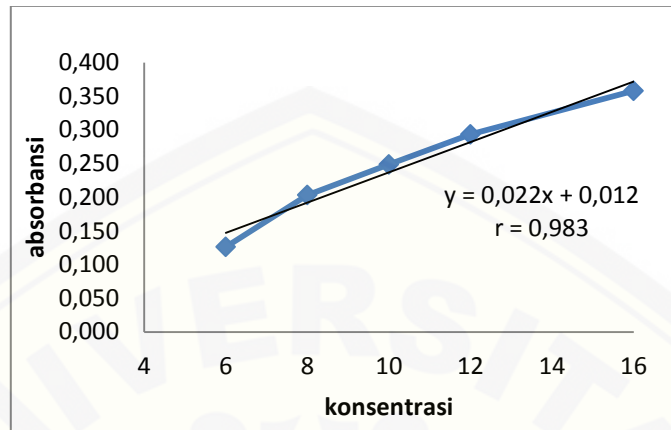
$$200 \text{ ppm} \rightarrow \frac{2 \text{ ml}}{4 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

$$1000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{2 \text{ mg}}{4 \text{ ml}} \times 2000 = 1000 \text{ ppm}$$

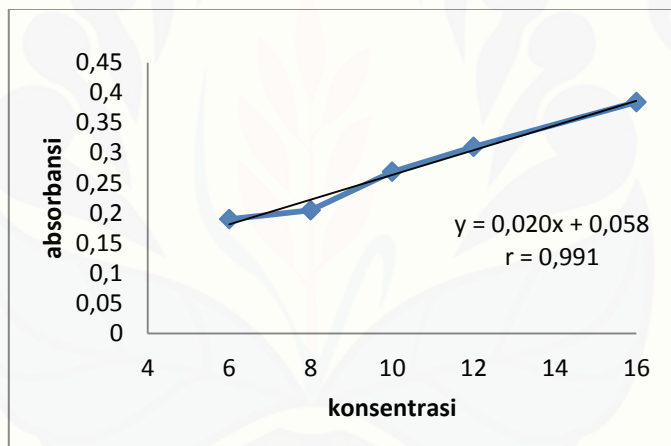
- Kurva BSA 10 ppm



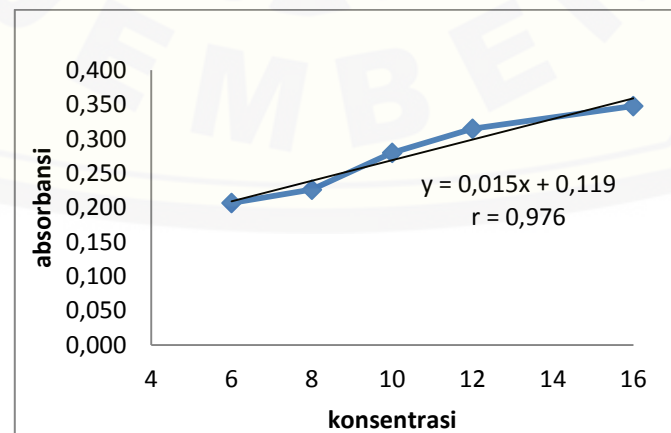
- Kurva BSA 40 ppm



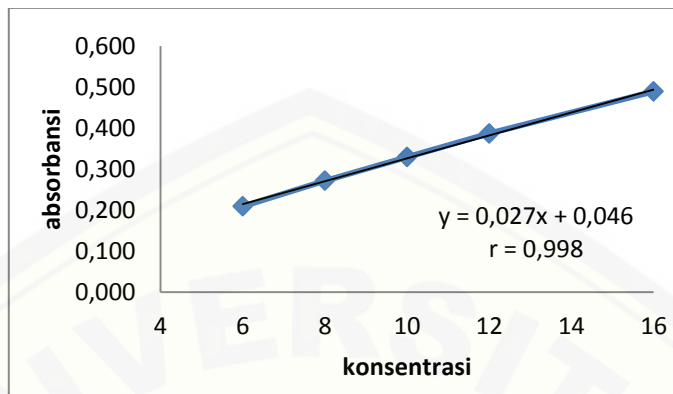
- Kurva BSA 100 ppm



- Kurva BSA 200 ppm



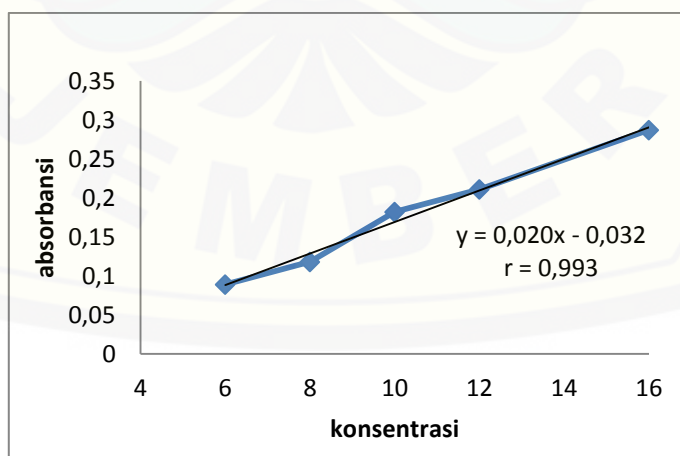
- Kurva BSA 1000 ppm



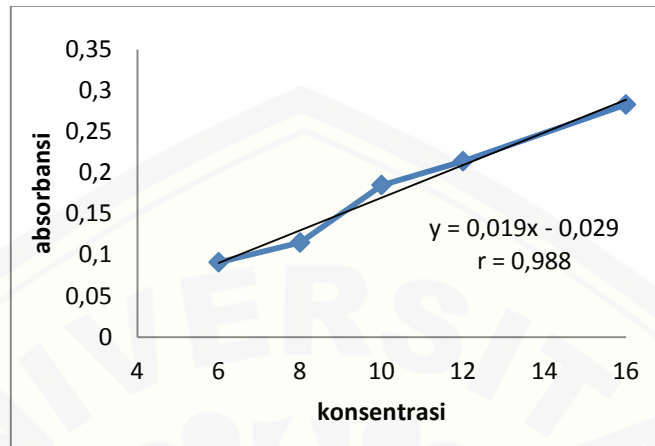
LAMPIRAN D. OPTIMASI WAKTU PERENDAMAN SELULOSA ASETAT

konsentrasi	absorbansi pada waktu ke-							
	3 jam	6 jam	9 jam	12 jam	15 jam	18 jam	21 jam	24 jam
6	0,089	0,091	0,112	0,139	0,183	0,210	0,224	0,397
8	0,118	0,115	0,198	0,228	0,242	0,265	0,271	0,495
10	0,182	0,185	0,278	0,277	0,291	0,295	0,347	0,612
12	0,211	0,214	0,311	0,364	0,359	0,374	0,431	0,727
16	0,287	0,283	0,390	0,572	0,490	0,468	0,579	0,931

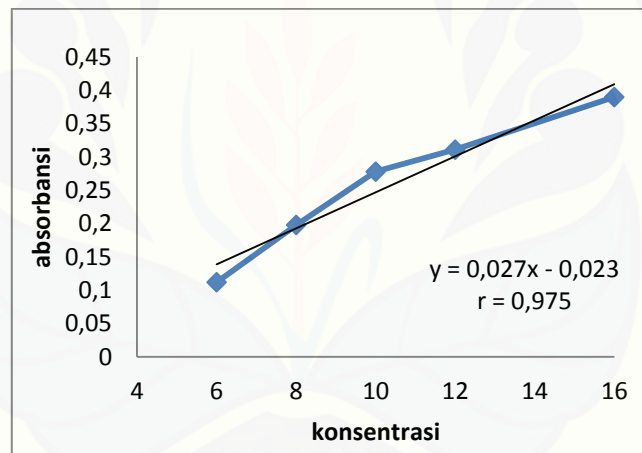
- Kurva pada waktu perendaman 3 jam



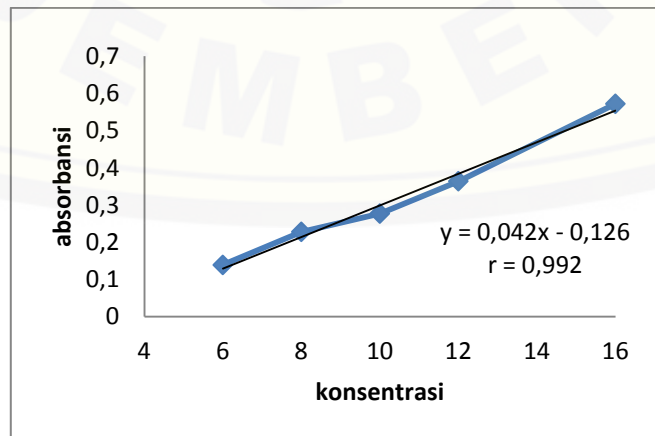
- Kurva pada waktu perendaman 6 jam



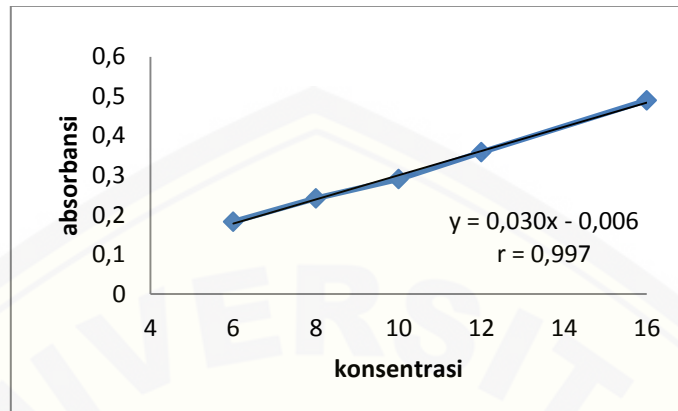
- Kurva pada waktu perendaman 9 jam



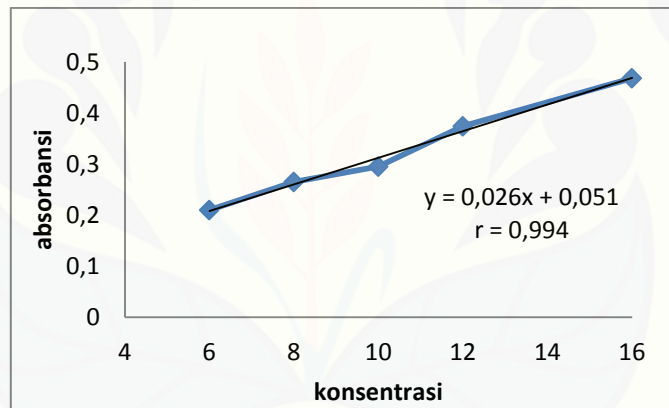
- Kurva pada waktu perendaman 12 jam



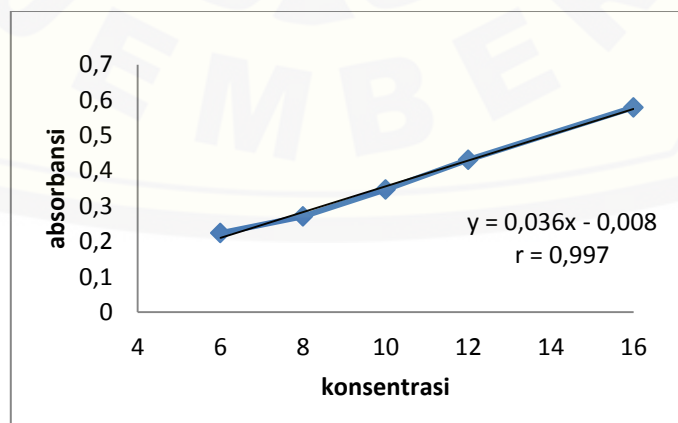
- Kurva pada waktu perendaman 15 jam



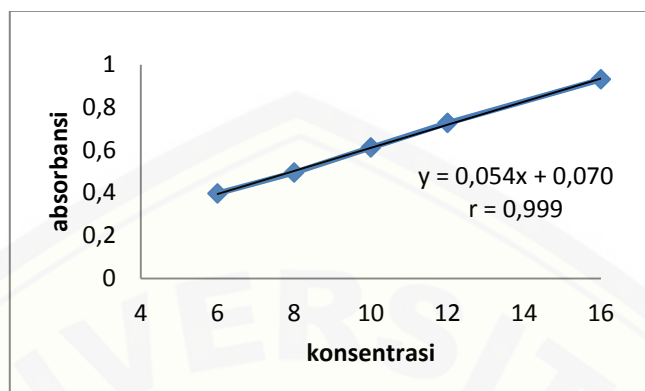
- Kurva pada waktu perendaman 18 jam



- Kurva pada waktu perendaman 21 jam



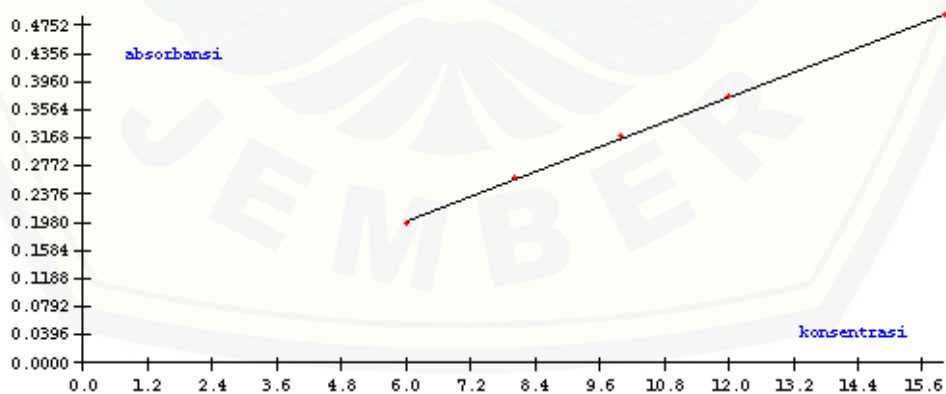
- Kurva pada waktu perendaman 24 jam



LAMPIRAN E. KARAKTERISTIK SENSOR KIMIA

E. 1 Penentuan Linieritas

Konsentrasi	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Absorbansi rata-rata
6	0,197	0,198	0,198	0,198
8	0,258	0,260	0,261	0,260
10	0,318	0,319	0,319	0,319
12	0,377	0,377	0,378	0,377
16	0,489	0,489	0,490	0,489



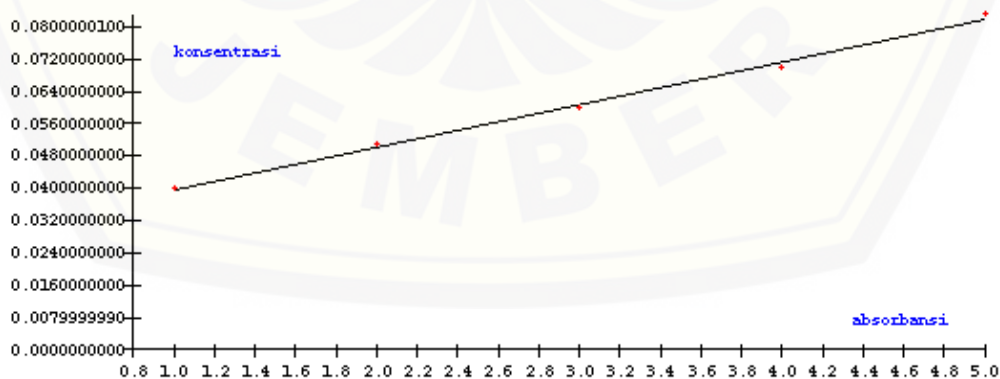
Line equation : $Y = 0.02664867 + 0.02903378X$
Corelation coefficient : 0.99978030
Vx0 value : 0.89546000%

Parameter	Hasil
Method	: Linearity
Probability	: 95%
Number of data	: 5
Line equation	: $Y = 0.026 + 0.029X$
Corelation coefficient	: 0.999
Sy value	: 0.0027
Vx0 value	: 0.8954%
Xp	: 0.7458

E. 2 Limit Deteksi dan Limit Kuantifikasi

Konsentrasi	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Absorbansi rata-rata
1	0,041	0,040	0,039	0,040
2	0,051	0,050	0,051	0,051
3	0,059	0,060	0,060	0,060
4	0,070	0,071	0,070	0,070
5	0,081	0,083	0,084	0,083

linieritas LD-LK



Line equation : $Y = 0.02930000 + 0.01050000X$
Corelation coefficient : 0.99805560
Vx0 value : 3.80069500%

Parameter	Hasil
Method	: Linearity
Probability	: 95%
Number of data	: 5
Line equation	: $Y = 0.0293 + 0.0105X$
Corelation coefficient	: 0.9981
Sy value	: 0.0012
Vx0 value	: 3.8007%
Xp value	: 0.7361

Parameter	Hasil
Method	: DL - QL
Number of data	: 5
DL value	: 0.74
QL value	: 2.21

E. 3 Penentuan Selektivitas

➤ Pembuatan Larutan Eritromisin

Ditimbang 10 tablet eritromisin → diperoleh berat rata-rata 0,83148 g

831,48 mg mengandung eritromisin 500 mg

Ditimbang 16,6296 mg sehingga mengandung 10 mg eritromisin

$$\frac{10 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 831,48 \text{ mg} = 16,6296 \text{ mg}$$

$$\text{Dibuat larutan induk } 1000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1000 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$10 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

➤ Pembuatan Larutan Pakan udang

$$\text{Larutan induk } 1000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 1000 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$10 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

Bahan	Absorbansi			rata-rata	Selisih	%interferensi
	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3			
Kloramfenikol 10 ppm	0,311	0,310	0,309	0,310		
Kloramfenikol 10 ppm + eritromisin 10 ppm	0,312	0,313	0,313	0,313	0,003	0,86
Kloramfenikol 10 ppm + eritromisin 100 ppm	0,315	0,319	0,316	0,317	0,007	2,15
Kloramfenikol 10 ppm + eritromisin 1000 ppm	0,321	0,321	0,319	0,320	0,010	3,33
Kloramfenikol 10 ppm	0,319	0,320	0,320	0,320		
Kloramfenikol 10 ppm + pakan ternak 10 ppm	0,320	0,322	0,323	0,322	0,002	0,63
Kloramfenikol 10 ppm + pakan ternak 100 ppm	0,341	0,340	0,337	0,339	0,020	6,15
Kloramfenikol 10 ppm + pakan ternak 1000 ppm	0,360	0,360	0,365	0,362	0,042	13,14

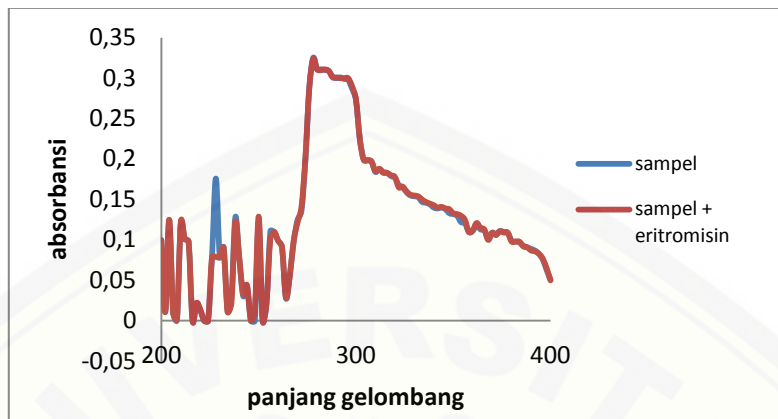
Selisih didapat dengan perhitungan seperti berikut:

$$\begin{aligned} \text{Selisih} &= \text{Absorbansi}_{(\text{kloramfenikol} + \text{eritromisin})} - \text{Absorbansi}_{\text{kloramfenikol}} \\ &= 0,313 - 0,31 \\ &= 0,003 \end{aligned}$$

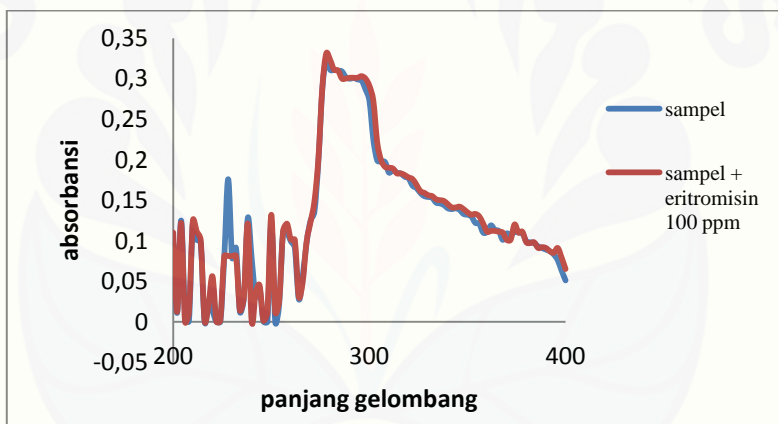
Adapun %interferensi didapat dengan cara sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \% \text{Interfensi} &= \frac{\text{Selisih}}{\text{Absorbansi kloramfenikol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,003}{0,31} \times 100\% \\ &= 0,86\% \end{aligned}$$

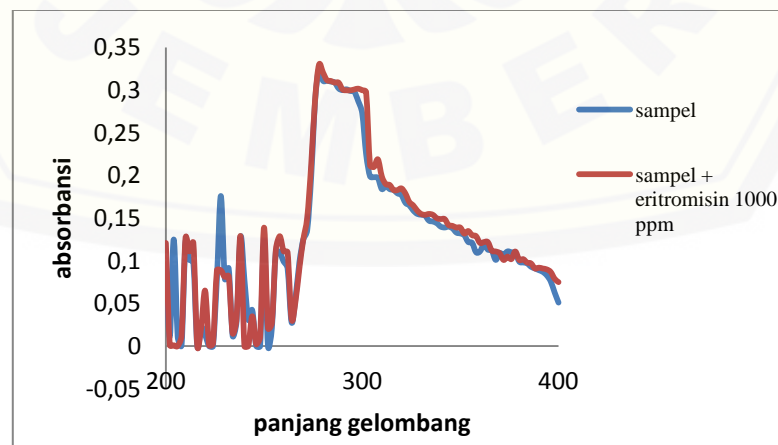
- Selektivitas dengan pengganggu Eritromisin 10 ppm



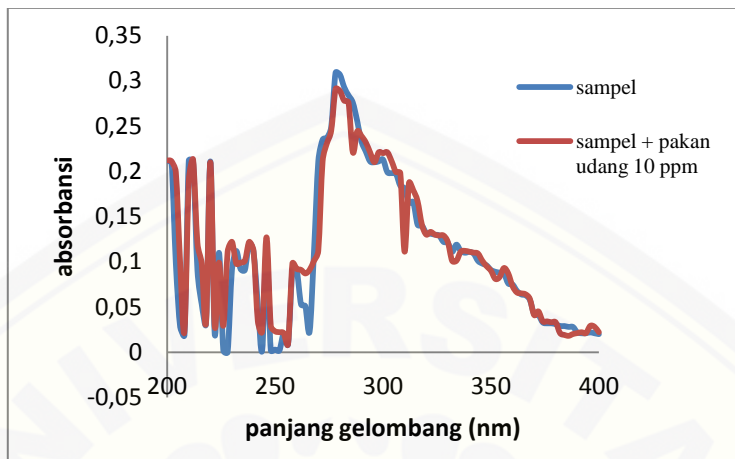
- Selektivitas dengan pengganggu Eritromisin 100 ppm



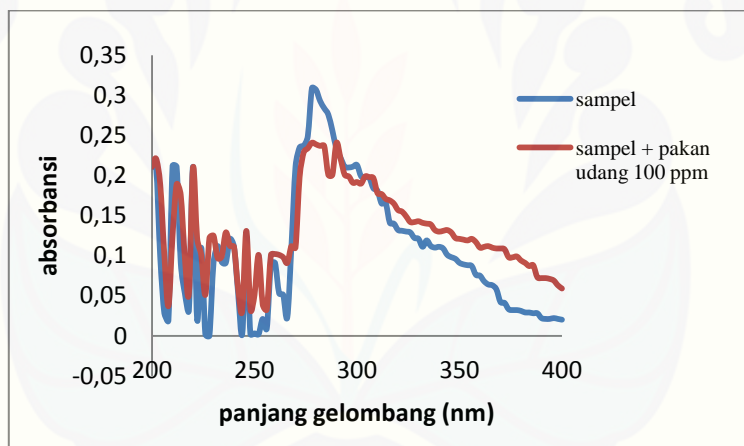
- Selektivitas dengan pengganggu Eritromisin 1000 ppm



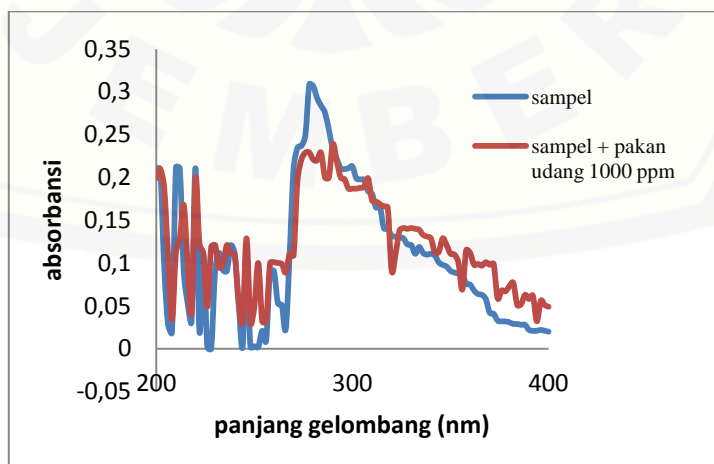
- Selektivitas dengan pengganggu pakan udang 10 ppm



- Selektivitas dengan pengganggu pakan udang 100 ppm



- Selektivitas dengan pengganggu pakan udang 1000 ppm



E. 4 Penentuan Presisi**E.4.1 Presisi Repeatabilitas**

Penimbangan (g)	Abs.	Masssa (mg)	%b/b	Rata-rata %b/b	SD	RSD
3,0128	0,321	0,101724	0,003376	0,003427	8,26.10 ⁻⁵	2,4107
3,0047	0,319	0,101034	0,003363			
3,0315	0,341	0,108621	0,003583			
3,0211	0,325	0,103103	0,003413			
3,0304	0,329	0,104483	0,003448			
3,0115	0,321	0,101724	0,003378			

E.4.2 Presisi Intermediet

Hari	Absorbansi	Masssa (mg)	%b/b	Rata-rata %b/b	SD	RSD
I	0,321	0,1017	0,003376	0,003467	8,261.10 ⁻⁵	2,4107
	0,319	0,1010	0,003363			
	0,341	0,1086	0,003583			
	0,325	0,1031	0,003413			
	0,329	0,1045	0,003448			
II	0,321	0,1017	0,003378	0,003432	7,779.10 ⁻⁵	2,2666
	0,323	0,1024	0,003399			
	0,32	0,1014	0,003374			
	0,341	0,1086	0,003583			
	0,326	0,1034	0,003424			
III	0,328	0,1041	0,003436	0,003427	7,698.10 ⁻⁵	2,2463
	0,321	0,1017	0,003378			
	0,323	0,1024	0,003399			
	0,319	0,1010	0,003363			
	0,34	0,1083	0,003572			
	0,326	0,1034	0,003424			
	0,328	0,1041	0,003436			
	0,32	0,1014	0,003366			
				Rata-rata RSD		2,3078

Adapun perhitungan tersebut diperoleh dengan cara berikut:

Misal replikasi 1 pada hari 1

Absorbansi (y) 0,321 $\rightarrow y = 0,029x + 0,026$

$$\rightarrow x = 10,17 \text{ ppm}$$

Jumlah analit dalam larutan sampel 10 ml:

$$10,17 \mu\text{g/ml} \times 10 \text{ ml} = 101,7 \mu\text{g} \rightarrow 0,1017 \text{ mg}$$

$$\% \text{b/b} \rightarrow \frac{0,1017 \text{ mg}}{3012,8 \text{ mg}} \times 100\% = 0,0033764\%$$

E. 5 Penentuan Akurasi

Penambahan standar	Penimbangan sampel adisi (mg)	Massa kloramfenikol teoritis (mg)	Kloramfenikol hasil percobaan		%recovery	RSD
			abs.	massa (mg)		
30%	0,0318	0,1376	0,426	0,1379	100,20	0,67
	0,0311	0,1346	0,412	0,1331	98,88	
	0,0313	0,1355	0,417	0,1348	99,48	
45%	0,0476	0,1534	0,473	0,1541	100,45	0,88
	0,0466	0,1501	0,407	0,1531	102,00	
	0,0463	0,1493	0,461	0,1500	100,47	
60%	0,0628	0,1674	0,519	0,1700	101,58	1,70
	0,0620	0,1654	0,498	0,1628	98,41	
	0,0619	0,1651	0,510	0,1669	101,10	
Rata-rata RSD						1,08

Adapun data di atas diperoleh dengan cara sebagai berikut:

1. Adisi 30%

- Penimbangan sampel 3 gram, maka jumlah standar kloramfenikol

$$\frac{3000 \text{ mg sampel} \times 0,00346 \text{ g} \times 0,3}{100 \text{ g}} = 0,03114 \text{ mg standar kloramfenikol}$$

0,00346 merupakan kadar b/b (%) rata-rata dari hasil uji presisi

- Konsentrasi teoritis

$$\frac{0,00346 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 3000 \text{ mg} = 0,1038 \text{ mg} + 0,03114 \text{ mg} = 0,13494 \text{ mg} \text{ (jumlah kloramfenikol dalam standar adisi 30\%)}$$

- Hasil percobaan = 0,1331 mg

$$\% \text{ recovery} = \frac{0,1331 \text{ mg}}{0,13494 \text{ mg}} \times 100\% = 98,64\%$$

2. Adisi 45%

- Penimbangan sampel 3 gram, maka jumlah standar kloramfenikol

$$\frac{3000 \text{ mg sampel} \times 0,00346 \text{ g} \times 0,45}{100 \text{ g}} = 0,04671 \text{ mg standar kloramfenikol}$$

- Konsentrasi teoritis

$$\frac{0,00346 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 3000 \text{ mg} = 0,1038 \text{ mg} + 0,04671 \text{ mg} = 0,15051 \text{ mg} \text{ (jumlah kloramfenikol dalam standar adisi 45\%)}$$

- Hasil percobaan = 0,1501 mg

$$\% \text{ recovery} = \frac{0,1501 \text{ mg}}{0,15051 \text{ mg}} \times 100\% = 99,73\%$$

3. Adisi 60%

- Penimbangan sampel 3 gram, maka jumlah standar kloramfenikol

$$\frac{3000 \text{ mg sampel} \times 0,00346 \text{ g} \times 0,6}{100 \text{ g}} = 0,06228 \text{ mg standar kloramfenikol}$$

- Konsentrasi teoritis

$$\frac{0,00346 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 3000 \text{ mg} = 0,1038 \text{ mg} + 0,06228 \text{ mg} = 0,16608 \text{ mg} \text{ (jumlah kloramfenikol dalam standar adisi 60\%)}$$

- Hasil percobaan = 0,1654 mg

$$\% \text{ recovery} = \frac{0,1654 \text{ mg}}{0,16608 \text{ mg}} \times 100\% = 99,59\%$$

LAMPIRAN F. APLIKASI PADA SAMPEL PASAR

- Data hasil pengukuran tanpa selulosa asetat

Sampel	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Absorbansi rata-rata	Kadar (ppm)
1	0,057	0,057	0,057	0,057	1,07
2	0,089	0,090	0,090	0,090	2,21
3	0,110	0,112	0,110	0,111	2,93
4	0,016	0,017	0,017	0,017	-0,31
5	0,003	0,004	0,003	0,003	-0,79

- Data hasil pengukuran dengan selulosa asetat

Sampel	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Absorbansi rata-rata	Kadar (ppm)
1	0,055	0,056	0,057	0,056	1,03
2	0,097	0,098	0,098	0,098	2,48
3	0,111	0,113	0,115	0,113	3,00
4	0,022	0,021	0,022	0,022	-0,14
5	0,000	0,002	0,001	0,001	-0,86

- Hasil uji normalitas

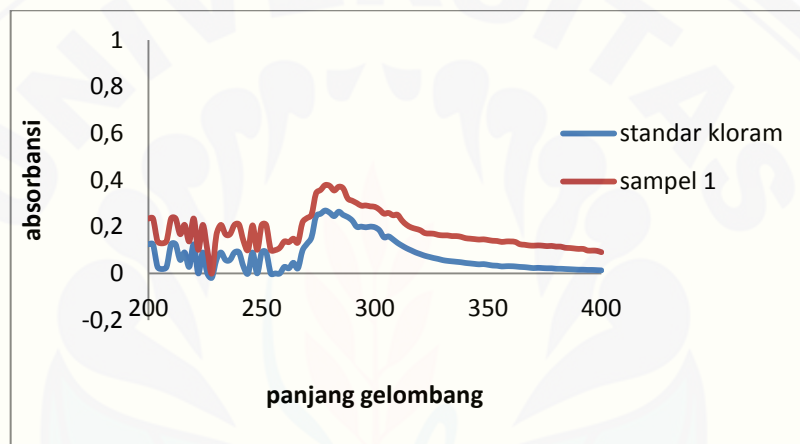
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
konsentrasi	perlakuan tanpa selulosa asetat	.226	3		.983	3	.752
	dengan selulosa asetat	.286	3		.931	3	.492

- Hasil uji t tidak berpasangan

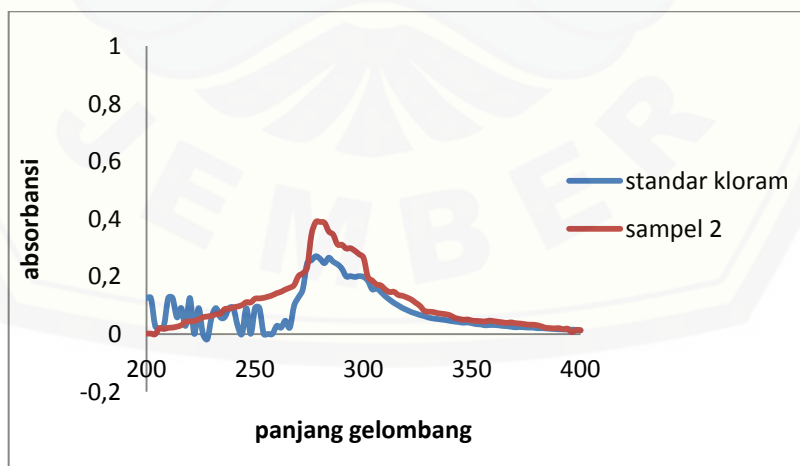
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
konsentrasi	Equal variances assumed	.067	.808	-.125	4	.907	-.10000	.80040	-2.32225	2.12225
	Equal variances not assumed			-.125	3.972	.907	-.10000	.80040	-2.32855	2.12855

Sampel	Spektrofotometer UV-Vis		Sensor		Uji t tidak berpasangan
	Absorbansi	Kadar (ppm)	Absorbansi	Kadar (ppm)	
1	0,057	1,07	0,056	1,03	tidak berbeda signifikan
2	0,090	2,21	0,098	2,48	tidak berbeda signifikan
3	0,111	2,93	0,113	3,00	tidak berbeda signifikan
4	0,017	Tidak terdeteksi	0,022	Tidak terdeteksi	-
5	0,003	Tidak terdeteksi	0,001	Tidak terdeteksi	-

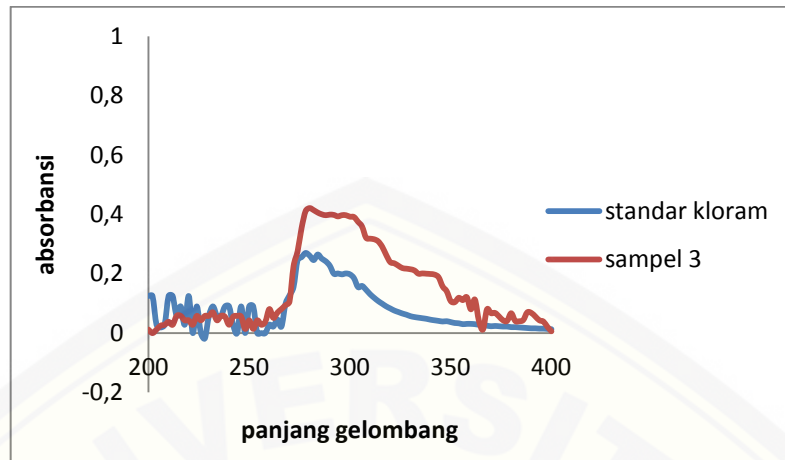
- Perbandingan spektra kloramfenikol dengan sampel 1



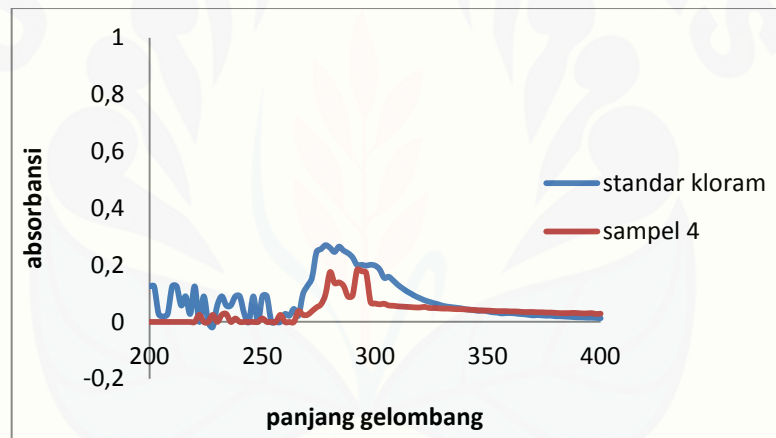
- Perbandingan spektra kloramfenikol dengan sampel 2



- Perbandingan spektra kloramfenikol dengan sampel 3



- Perbandingan spektra kloramfenikol dengan sampel 4



- Perbandingan spektra kloramfenikol dengan sampel 5

