



**PENETAPAN KADAR RESIDU KLORAMFENIKOL DALAM
LELE MELALUI PERENDAMAN DENGAN METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

Oleh :

Charolina Ayu Widyastuti

NIM 092210101053

BAGIAN KIMIA ANALISIS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2013



**PENETAPAN KADAR RESIDU KLORAMFENIKOL DALAM
LELE MELALUI PERENDAMAN DENGAN METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan Strata I Farmasi (S1)
dan meraih gelar Sarjana Farmasi

Oleh :

Charolina Ayu Widyastuti

NIM 092210101053

**BAGIAN KIMIA ANALISIS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2013

PERSEMBAHAN

Dengan penuh syukur, skripsi ini kupersembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas ridho dan amanah-Nya sehingga mendapat kesempatan untuk belajar semua ilmu yang luar biasa ini. Semoga karya ini menjadi suatu ibadah.
2. Rasulullah Muhammad SAW, yang telah membawa pencerahan sehingga saya dapat sampai pada saat ini;
3. Kepada orang tuaku tercinta, Ayahanda Drs. Heri Wahyudi, MM. dan Ibunda Retno Puji Listyoratih atas semua doa yang selalu menyertai di setiap waktunya, serta telah mendidik saya menjadi manusia yang lebih bermanfaat;
4. Guru-guru dan dosen-dosenku tercinta, yang telah mendidik saya untuk menjadi manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Almamaterku Fakultas Farmasi Universitas Jember atas seluruh kesempatan menimba ilmu yang berharga ini.

MOTTO

Apabila telah ditunaikan shalat maka bertebarlah kamu di muka bumi dan carilah karunia Allah dan ingatlah Allah banyak-banyak supaya kamu beruntung.

(terjemahan Surat Al-Jumua' ayat 10)^{*)}

Sesungguhnya sesudah ada kesulitan akan datang kemudahan, maka kerjakanlah urusanmu dengan sungguh-sungguh dan hanya kepada Allah kamu berharap

(terjemahan Surat Asy-Syar-i ayat 6-8)^{*)}

“Manfaatkan masa mudamu sebelum datang masa tuamu, manfaatkan masa luangmu sebelum datang masa sibukmu, manfaatkan waktu sehatmu sebelum datang waktu sakitmu, manfaatkan waktu kayamu sebelum datang waktu miskinmu, manfaatkan hidupmu sebelum datang matimu” (Rasulullah SAW).

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al-Qur'an dan Terjemahnya. Bandung: CV Penerbit J-ART.

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Charolina Ayu Widyastuti

NIM : 092210101053

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul "*Penetapan Kadar Residu Kloramfenikol dalam Lele melalui Perendaman dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* " adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, 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, 25 Juli 2013
Yang menyatakan,

Charolina Ayu Widyastuti
NIM 092210101053

SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR RESIDU KLORAMFENIKOL DALAM
LELE MELALUI PERENDAMAN DENGAN METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

Oleh:

Charolina Ayu Widyastuti
NIM 092210101053

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm

Dosen Pembimbing Anggota : Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “*Penetapan Kadar Residu Kloramfenikol dalam Lele melalui Perendaman dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*”, telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 25 Juli 2013

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Dwi Koko P., S.Farm., Apt.
NIP 196801221997022001

Nia Kristiningrum, S.Farm. Apt., M.Farm.
NIP 197512152003122005

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm
NIP 197604142002122001

Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si
NIP 197806092005012004

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm
NIP 197604142002122001

Charolina Ayu Widyastuti

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRAK

*Chloramphenicol is a broad spectrum antibiotic that inhibit synthesis of bacterial protein. Chloramphenicol was widely used in farming on catfish (*Clarias gariepinus*) as well to prevent and treat of several diseases it was provided oral, soaking, and injection administration. The use of chloramphenicol with overdoses can lead residues in the body of catfish. The purpose of this study was to develop High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method to determination of chloramphenicol on catfish (*Clarias sp.*) through soaking administration. Determination of chloramphenicol levels was conducted by using HPLC (High Performance Liquid Chromatography), involving RPC-18 Chibar® 250-4,6 HPLC column with mobile phase of methanol p.a : aquabidest (70:30) and flow rate 0,7ml/minute, UV detector at 275 nm, was used to quantity chloramphenicol residue. Method validation showed that procedure have a good linearity with correlation coefficient value 0,998 and V_{x0} value 3,345%. This method also have a good accuracy and precision with percentage of recovery were $101.263\% \pm 2.448$ and relative standard deviation (repeatability = 1,970% and intermediate precision = $0,931\% \pm 0.00216$). Limit of detection (LOD) and limit of quantization (LOQ) were 0.788 ppm and 2.627 ppm, respectively. The result showed that there were chloramphenicol residues in the catfish that were gived treatment at a dose 250 mg three times a day for 2 weeks were catfish A $0,231\% \pm 0,001$; catfish B $0,227\% \pm 0,021$; catfish C $0,227\% \pm 0,003$.*

Key words: *catfish, chloramphenicol, HPLC, residues, soaking.*

RINGKASAN

Penetapan Kadar Residu Kloramfenikol dalam Lele melalui Perendaman dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi; Charolina Ayu Widyastuti, 092210101053; 73 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Kloramfenikol adalah antibiotik berspektrum luas yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri dan menjadi obat pilihan pada penyakit *Typhoid salmonellosis*. Penggunaan kloramfenikol banyak digunakan dalam budidaya ikan lele baik untuk pencegahan maupun pengobatan beberapa penyakit. Kloramfenikol dapat diberikan melalui makanan, perendaman ataupun penyuntikan dengan dosis dan lama pemberian yang tidak beraturan serta melebihi dosis lazim kloramfenikol. Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk menetapkan kadar Kloramfenikol dalam lele melalui perendaman. Serangkaian prosedur validasi dilakukan untuk memastikan bahwa metode yang dikembangkan memberikan hasil yang benar/sahih.

Kondisi analisis yang digunakan mengacu pada penelitian sebelumnya (Putri, 2013) meliputi komposisi fase gerak/eluen berupa metanol dan aquabidest (70:30); fase diam berupa kolom RPC-18 Chibar® 250-4,6; detektor UV-Vis; panjang gelombang pengamatan 275 nm; *flow-rate* 0,7 ml/menit; dan konsentrasi uji 10 ppm. Metode KCKT untuk penetapan kadar Kloramfenikol dalam lele memberikan hasil analisis yang spesifik dilihat dari spektra sampel dan standar yang identik secara visual; linier ($r = 0,998$ dan $V_{x0} = 3,345\%$); sensitif (batas deteksi = 0,788 dan batas kuantitasi = 2,627); presisi (RSD *Repeatability* 1,970% dan RSD *Intermediet precision* $0,931 \pm 0,00216$); akurat (%*Recovery* $101,263\% \pm 2,448$).

Hasil penelitian menunjukkan terdapat residu Kloramfenikol dalam lele yang telah diterapi Kloramfenikol 250 mg 3 x sehari selama 2 minggu dengan perolehan kadar Kloramfenikol (%b/b) lele A $0,231\% \pm 0,001$; lele B $0,227\% \pm 0,021$; lele C $0,227\% \pm 0,003$.

PRAKATA

Puji syukur diucapkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Penetapan Kadar Residu Kloramfenikol dalam Lele melalui Perendaman dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember sekaligus Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang telah banyak membantu penulisan skripsi ini;
2. Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si, selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. Dwi Koko P., S.Farm.,Apt., selaku Dosen Penguji I dan Nia Kristiningrum, S.Farm. Apt., M.Farm., selaku Dosen Penguji II yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Indah Yuliah Ningsih S.Farm.,Apt. dan Budipratiwi W., S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) yang telah banyak memberikan saran, masukan dalam bidang akademik dan aktivitas perkuliahan penulis;
5. Teknisi Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Jember bu Wayan dan mbak Hani yang telah membantu selama melaksanakan penelitian;
6. Civitas Akademika dan seluruh Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bantuan dan kerjasamanya;

7. Ayahanda Drs. Heri Wahyudi, MM., terima kasih atas segala pengorbanan, dorongan semangat, nasehat, dan doa restunya tiada henti serta cinta dan kasih sayang yang tak ternilai harganya;
8. Ibunda Retno Puji Listyoratih, terima kasih telah sabar mendidiku menjadi seorang anak yang mandiri, setia menemaniku disaat aku merasa lemah, mendengar keluh kesah dan selalu mendoakan setiap langkahku untuk menjadi yang terbaik. Semua jasmu tidak akan pernah bisa tergantung oleh apapun di dalam hidupku;
9. Kakakku Ayunda Debrina Puspawati serta adikku Ratna Ayu Puspitasari yang selalu mendoakan dan memberiku motivasi untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
10. Andhika Hery Ichwahyudi terima kasih atas kasih sayangnya untukku, motivasi, kesetiaan dan kesabaran selama ini, semoga Allah selalu meridhoi langkah kita;
11. Teman-teman seperjuangan Aang, Hesti, Shintya, Ditha, Retno, Wenny, Aminah Ika, Putri, Sasya, Iis, Risa, Andre, Endah, serta Putu terima kasih atas bantuan, dorongan semangat dan kebersamaan selama ini.
12. Sahabat-sahabatku F.R.I.E.N.D, Fiqnanda I. Putri, Sukma, Lely, Arin, Meme serta teman-teman kos 'Bilquis Queen' *you're so awesome, thanks for everything.*
13. Teman-teman satu angkatan 2009 (*The Niners*) Fakultas Farmasi, terima kasih atas kerjasama, dukungan, kebersamaan bersama kalian membuatku dapat melewati masa-masa *amazing* saat kuliah.
14. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, terimakasih banyak sehingga membuat saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 25 Juli 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
ABSTRAK	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4 Batasan Masalah	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ikan Lele	6
2.1.1 Morfologi Ikan Lele	7
2.2.1 Penyakit Lele	8
2.2 Kloramfenikol	10

2.2.1 Sifat Fisiko Kimia	10
2.2.2 Kegunaan Umum	11
2.2.3 Farmakokinetika	11
2.2.4 Toksikologi	11
2.3 Kromatografi.....	12
2.3.1 Pembagian Kromatografi.....	12
2.3.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	13
2.3.3 Jenis KCKT.....	15
2.3.4 Jenis Kolom	17
2.3.5 Fase gerak pada KCKT	18
2.3.6 Jenis Pompa	19
2.3.7 Jenis Detektor.....	19
2.3.8 Parameter KCKT	21
2.3.9 Proses Pemisahan dalam Kolom KCKT	23
2.4 Penetapan Kadar Residu Kloramfenikol	25
2.5 Validasi Metode	25
2.5.1 Akurasi (Ketepatan).....	27
2.5.2 Presisi (Keseksamaan)	28
2.5.3 Spesifitas (Selektivitas).....	30
2.5.4 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	30
2.5.5 Linieritas	32
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	33
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
3.2 Rancangan Penelitian.....	33
3.2.1 Rancangan Percobaan	33
3.2.2 Alur Penelitian	34
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	35
3.3.1 Alat.....	35
3.3.2 Bahan	35

3.4 Prosedur Penelitian	35
3.4.1 Preparasi sampel	35
3.4.2 Kondisi Analisis.....	36
3.4.3 Validasi Metode Analisis.....	36
3.4.4 Penetapan Kadar Residu Kloramfenikol dalam Sampel	
Ikan Lele	40
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Kondisi Analisis	41
4.2 Validasi Metode Analisis.....	42
4.2.1 Spesifisitas	42
4.2.2 Linieritas	44
4.2.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	45
4.2.4 Presisi.....	46
4.2.5 Akurasi.....	48
4.3 Penetapan Kadar dalam Ikan Lele melalui Perendaman	50
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Parameter Validasi menurut USP.	26
2.2 Persen <i>Recovery</i> Analit pada Konsentrasi yang Berbeda	28
2.3 Rentang Kesalahan yang Dijinkan pada Setiap Konsentrasi Analit pada Sampel.	29
4.1 Data Parameter Pengujian Linieritas.....	45
4.2 Hasil Presisi <i>Repeatability</i> dengan n=6.	47
4.3 Hasil Pengujian <i>Intermediet Precision</i> dalam Tiga Hari Percobaan dengan n=6.....	47
4.4 Hasil Akurasi Kloramfenikol dalam Ikan Lele	49
4.5 Hasil Penetapan Kadar Kloramfenikol (% b/b) dalam Sampel Ikan Lele	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Ikan Lele (<i>Clarias sp.</i>)	6
2.2 Rumus Bangun Kloramfenikol	10
2.3 Skema Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	14
2.4 Pengukuran derajat asimetri puncak	22
2.5 Ilustrasi proses pemisahan yang terjadi di dalam kolom KCKT	24
3.1 Diagram Alir Penelitian Kloramfenikol dalam Ikan Lele secara KCKT..	34
4.1 Spektra Standar Kloramfenikol.....	42
4.2 Spektra Sampel Lele yang mengandung Kloramfenikol.	42
4.3 Spektra Standar Kloramfenikol dan Sampel Lele mengandung Kloramfenikol.	43
4.4 Kurva Linieritas Konsentrasi Berbanding Luas Area Kloramfenikol.....	44
4.5 Kurva Linieritas Konsentrasi Berbanding Luas Area Kloramfenikol pada Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.	46
4.6 Salah Satu Kromatogram Hasil Pengujian Presisi	48
4.7 Salah Satu Kromatogram Hasil Pengujian Akurasi	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data dan Perhitungan Linieritas	58
B. Data dan Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	60
C. Data dan Perhitungan Hasil Pengujian Presisi	62
D. Data dan Perhitungan Pengujian Akurasi	65
E. Data Hasil dan Perhitungan Penetapan Kadar Kloramfenikol dalam Sampel Ikan Lele	69