



**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE KCKT UNTUK PENETAPAN
KADAR RESIDU OKSITETRASIKLIN PADA IKAN LELE
DENGAN PEMBERIAN SECARA *Intra-abdominal cavity***

SKRIPSI

Oleh

Hesti Sofiarini

NIM 092210101020

**BAGIAN KIMIA ANALISIS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**



**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE KCKT UNTUK PENETAPAN
KADAR RESIDU OKSITETRASIKLIN PADA IKAN LELE
DENGAN PEMBERIAN SECARA *Intra-abdominal cavity***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata I (SI) Farmasi dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Hesti Sofiarini

NIM 092210101020

**BAGIAN KIMIA ANALISIS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan Kepada :

1. Allah SWT yang telah melimpahkan segala nikmat, rahmat, kekuatan dan kasih sayang tak terhingga pada hamba sampai akhir hayat
2. Ayahku, Moch. Munir dan Ibuku, Siti Hartini, S.E, yang selalu mendo'akanku, menyayangiku dan telah membesarkanku dengan kasih sayang hingga menjadikanku seperti ini. *You're my spirit of life.*
3. Dosen-dosen pembimbingku, Bu Yuni Retnaningtyas, S. Si., Apt., M. Si. dan Bu Lestyo Wulandari, S. Si., Apt., M. Farm., atas segala pengarahan, saran, dan motivasi serta kesabaran kalian yang luar biasa selama penelitianku. *You're like an angel in the paradise.*
4. Seluruh bapak dan ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberiku pengetahuan dan ilmu kefarmasian, penelitianku termasuk buah pembimbingan kalian semua selama 4 tahun.
5. Para Pahlawan tanpa tanda jasa sejak dari TK Darma Wanita Bangil, SDN Kersikan II, SMP Negeri 2 Bangil, dan SMA Negeri 1 Bangil yang telah memberiku fondasi yang kokoh untuk membangun masa depanku.
6. Saudara-saudaraku yang selalu mendoakan dan memberi semangat, serta semua orang yang berperan penting dalam kehidupanku,
7. *My Little Family in the future, Your're my Dream.*
8. Almamaterku Fakultas Farmasi Universitas Jember, semoga skripsi ini bermanfaat.

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan; Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain;

Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”.

(Terjemahan Q.S. Surat Al-Insyirah ayat 6-8)¹⁾

“Man Jadda wajada, Man Shabara Zhafira, Man Yazra’ Yahsud”

Siapa yang bersungguh-sungguh akan sukses, Siapa yang bersabar dia akan

beruntung, Siapa yang menanam akan menuai yang ditanam.

(A. Fuadi)²⁾

Kehidupan itu seperti sebuah cermin - jika engkau menghadiahkan senyuman

kepadanya maka engkau akan mendapatkannya kembali.

(Johann Wolfgang von Goethe)

¹⁾ Departemen Agama Republik Indonesia. 2008. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: CV Penerbit Diponegoro

²⁾ Fuadi, A. 2010. Novel: *Negri 5 Menara*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Hesti Sofiarini

NIM : 092210101020

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Pengembangan dan Validasi Metode KCKT untuk Penetapan Kadar Residu Oksitetrasiklin pada Ikan Lele dengan Pemberian Secara *Intra-Abdominal Cavity*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun. Saya bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini terbukti tidak benar.

Jember, 6 September 2013

Yang menyatakan,

Hesti Sofiarini

NIM 092210101020

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE KCKT UNTUK PENETAPAN
KADAR RESIDU OKSITETRASIKLIN PADA IKAN LELE
DENGAN PEMBERIAN SECARA *Intra-abdominal cavity***

Oleh

Hesti Sofiarini

NIM 092210101020

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Lesty Wulandari, S. Si., Apt., M. Farm.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengembangan dan Validasi Metode KCKT untuk Penetapan Kadar Residu Oksitetrasiklin pada Ikan Lele dengan Pemberian Secara *Intra-Abdominal Cavity*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Jum’at

Tanggal : 6 September 2013

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua

Sekretaris

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

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

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Ayik Rosita P, S. Farm., Apt., M. Farm.
NIP 198102012006042001

Nia Kristiningrum, S. Farm., Apt., M. Farm.
NIP 198204062006042001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

HESTI SOFIARINI

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRACT

Catfish is a kind of fish that is often stricken with disease especially MAS (Motile Aeromonad Septicemia), to overcome this problem catfish farmers do treatment and prevention by injecting oxytetracycline in to Intra-abdominal cavity area. Oxytetracycline is a derivative antibiotic of tetracycline that is produced by Streptomyces rimosus. Oxytetracycline is yellow, bitter, and has high solubility in acid and solubility low in water. Oxytetracycline is a drug with broad spectrum that can be easily absorbed in our body and it makes metabolism process run easily. The use of oxytetracycline in the cultivation of fresh water fish is not allowed because the accumulation of antibiotic residues in fish in a long period will cause various diseases such as tumor, cancer, and the other generative disease. In this study, we will develop an a method of analysis Oxytetracycline residue level in catfish by KCKT Uv-Vis with a detector that has high sensitivity, good resolution, and can analyze low quantity of sample such as in determining residue level. To guarantee the validity of the method, it was done a validity test toward the developed method. The result obtained that the method was valid and it has linearity of calibration $R = 0,9972$, precision with KV precision between = 3,54 % for dosage 40 mg and 5,73% for dosage 120 mg, and accurate with average score % recovery = 95,938 % for dosage 40 mg and 103,367 % for dosage 120 mg. Residue level that was obtained was 0,412 % in the catfish that was given dosage Oxytetracycline 40 mg and 0,730% to the catfish that was given dosage 120 mg.

Keywords : Oxytetracyckline residue, Oxytetracyckline injection, KCKT Uv-Vis

RINGKASAN

Pengembangan dan Validasi Metode KCKT untuk Penetapan Kadar Residu Oksitetrasiklin pada Ikan Lele dengan Pemberian Secara *Intra-Abdominal Cavity*; Hesti Sofiarini; 092210101020; 2013; 52 Halaman; Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Lele merupakan ikan yang cukup sering dikonsumsi oleh masyarakat, baik dari kalangan menengah ke bawah maupun menengah ke atas. Kebutuhan pasar yang tergolong cukup tinggi menginspirasi para petani ikan untuk membudidayakan ikan lele. Masyarakat banyak yang belum menyadari bahwa ikan lele tergolong ikan yang mudah terserang penyakit, seperti halnya penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*). Para petani lele biasa menyiasatinya dengan menyuntikkan oksitetrasiklin pada *Intra-abdominal cavity* lele dengan dosis yang tidak sesuai.

Oksitetrasiklin merupakan antibiotik turunan tetrasiklin yang diperoleh dari *Streptomyces rimosus*, berwarna kuning, berasa pahit, kelarutan dalam asam tinggi dan kelarutannya dalam air sangat rendah. Oksitetrasiklin merupakan antibiotik berspektrum luas. Penggunaan antibiotik dalam budidaya ikan air tawar tidak diperbolehkan karena residu antibiotik pada ikan jika terakumulasi dalam jangka panjang, maka akan menyebabkan terjadinya berbagai penyakit seperti tumor, kanker, dan penyakit generatif lainnya. Analisis residu oksitetrasiklin pada ikan lele dengan metode KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) masih belum memiliki metode penetapan kadar yang terpublikasikan.

Pada penelitian ini, akan dilakukan pengembangan dan validasi metode analisis penetapan kadar residu oksitetrasiklin dalam sampel daging ikan lele melalui metode KCKT. Peneliti menggunakan dua dosis yang berbeda pada perlakuan, yaitu dosis 40 mg sebagai dosis sesuai takaran yang dipersyaratkan (Suyatno, 2007) dan

dosis 120 mg sebagai dosis sembarangan yang mungkin diberikan oleh petani ikan untuk kemudian dilihat keberadaan residu dalam ikan lele tersebut.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah optimasi kondisi analisis, validasi metode analisis, serta penetapan kadar residu oksitetrasiklin pada daging ikan lele. Optimasi kondisi analisis meliputi optimasi pelarut, eluen, panjang gelombang, *flow rate* dan konsentrasi uji. Tahapan validasi metode meliputi uji selektivitas dan spesifisitas, uji linieritas, uji sensitivitas (batas deteksi dan batas kuantitasi), uji presisi dan uji akurasi. Tahap yang terakhir adalah penetapan kadar residu oksitetrasiklin dalam sampel daging ikan lele secara KCKT.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum metode KCKT untuk menganalisis adanya residu oksitetrasiklin pada daging ikan lele meliputi : pelarut metanol p.a; eluen asam asetat glasial 35% : metanol p.a (45 : 55) pH 2,23; panjang gelombang 365 nm; *flow rate* 0,6 ml/menit; dan konsentrasi uji 3 ppm. Metode KCKT untuk penetapan kadar residu oksitetrasiklin ini memberikan hasil yang selektif dan spesifik karena mampu memisahkan analit dengan komponen lain dalam sampel dan tidak ada gangguan dari matriks terhadap analisis serta spektra yang dihasilkan juga baik yaitu dengan memberikan nilai *match factor* berada pada rentang 900-1000, memiliki linieritas yang baik ($r = 0,9972$ dan $Vx0 = 3,48\%$) pada rentang konsentrasi 1-10 ppm dengan batas deteksi 0,134 ppm dan batas kuantitasi 0,447 ppm, presisi dengan KV ketertiruan = 7,3% dan KV presisi antara = 3,54% untuk dosis 40 mg dan 5,73% untuk dosis 120 mg, serta akurat dengan hasil rata-rata % *recovery* = 95,938% untuk dosis 40 mg dan 103,367% untuk dosis 120 mg.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel daging ikan lele mengandung residu oksitetrasiklin dengan kadar sebesar 0,412% pada lele yang diberikan dosis oksitetrasiklin 40 mg dan 0,730% pada lele yang diberikan dosis 120 mg. Berdasarkan data tersebut maka dapat disimpulkan bahwa pemberian oksitetrasiklin pada lele dapat menimbulkan residu yang berbahaya bagi kesehatan manusia.

PRAKATA



Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Pengembangan dan Validasi Metode KCKT untuk Penetapan Kadar Residu Oksitetrasiklin pada Ikan Lele dengan Pemberian Secara *Intra-Abdominal Cavity*” dengan baik. Adapun tulisan ini penulis selesaikan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata I (SI) Farmasi dan mencapai gelar Sarjana Farmasi.

Dalam penulisan ini tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah banyak memberi motivasi hingga pada akhirnya penulis mampu menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

- 1) Lestyo Wulandari, S. Si., Apt., M. Farm., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang juga telah berperan sebagai Dosen Pembimbing Anggota selama penelitianku atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan selama jalannya penelitian.
- 2) Yuni Retnaningtyas, S. Si., Apt., M. Si., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan banyak waktunya untuk memberikan pengarahan, saran, dan motivasi hingga terselesainya skripsi ini.
- 3) Ayik Rosita P., S. Farm., Apt., M Si. dan Nia Kristiningrum, S. Farm., Apt., M. Farm., selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan bagi penulis dalam perbaikan terhadap penulisan skripsi ini.
- 4) Yudi Wicaksono, S. Si., M. Si., Apt., selaku Dosen Pembimbing Akademik atas bimbingan dan arahannya mengenai aktivitas perkuliahan selama penulis duduk di semester satu hingga saat ini.
- 5) Ayah dan Ibu tersayang atas setiap do’a, dukungan moril maupun materiil serta cinta dan kasih sayang yang tak terkirakan yang telah kalian berikan. Terima kasih atas

pengorbanan yang telah kalian lakukan untuk penulis. Kalian adalah inspirasi dan panutan dalam hidupku.

- 6) Seluruh bapak dan ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi penulis pengetahuan dan ilmu kefarmasian, penelitian ini termasuk buah pembimbingan kalian semua selama 4 tahun.
- 7) Bapak Salim yang telah menyediakan tempat untuk pengembangbiakan lele penulis juga Bu Wayan dan Mbak Hany yang membantu selama penelitian.
- 8) Mbak Fila, Adik Ikkal, dan Saudara-saudaraku yang selalu mendo'akan dan memberi semangat, serta semua orang yang berperan penting dalam kehidupanku.
- 9) Teman-teman satu laboratorium kimia Andhika Hery, Charolina, Synthia, Anastasia Dita, Retno Yuliani, Ika Wardatus, Aminah dan Wenny atas dukungan dan semangat yang telah diberikan.
- 10) Teman-teman belajarku Mutiara, Nurul Faizah, Noermala, Selly Rio dan Arum atas pengalaman dan perjuangan yang dilalui bersama selama kuliah.
- 11) Teman-teman KKN kelompok 35 Desa Kaliglagah Ashyhari, Alfa, Ryadh, Basuki, Manda, Windi dan Octa atas kenangannya selama 45 hari. Semuanya terasa indah dan sangat berarti.
- 12) Teman-teman satu Kost *Blue Jail* dan mantan Kost PB atas semangatnya ketika penulis sedang dalam kondisi lemah.
- 13) Almamaterku Fakultas Farmasi Universitas Jember, semoga skripsi ini bermanfaat.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, banyak keterbatasan dan kekurangan. Untuk itu saran serta kritik yang membangun sangat penulis harapkan seperti pepatah “Tak Ada Gading yang Tak Retak”. Semoga Skripsi ini dapat berguna bagi pembaca dan bagi penulis khususnya.

Jember, 6 September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	i
COVER DALAM	ii
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
PEMBIMBINGAN	vi
PENGESAHAN	vii
ABSTRACT	viii
RINGKASAN	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Hipotesis	4
1.3 Rumusan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
1.6 Batasan Masalah	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ikan	6

2.1.1 Ikan Lele.....	6
2.1.2 Penyakit Ikan Lele	8
2.2 Oksitetrasiklin.....	10
2.2.1 Sifat Fisika Kimia Oksitetrasiklin	10
2.2.2 Fungsi Umum Oksitetrasiklin	12
2.2.3 Toksikologi	13
2.2.4 Batas Maksimum Residu Oksitetrasiklin	13
2.3 Kromatografi	14
2.3.1 Pembagian Kromatografi.....	15
2.3.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	15
2.3.3 Jenis Kolom KCKT	18
2.3.4 Jenis Pompa KCKT	18
2.3.5 Detektor KCKT	19
2.3.6 Proses Pemisahan dalam Kolom Kromatografi Cair	20
2.3.7 Faktor-Faktor yang Digunakan untuk Evaluasi Kinerja Kolom	21
2.4 Validasi Metode	24
2.4.1 Akurasi (Ketepatan).....	24
2.4.2 Presisi (Keseksamaan).....	25
2.4.3 Spesifisitas (Selektivitas).....	26
2.4.4 Linieritas	27
2.4.5 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	27
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	29
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.2 Rancangan Penelitian.....	29
3.2.1 Rancangan Percobaan	29
3.2.2 Alur Penelitian	30
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	31
3.3.1 Alat.....	31

3.3.2 Bahan	31
3.4 Prosedur Penelitian	31
3.4.1 Preparasi sampel	31
3.4.2 Optimasi Metode Analisis	32
3.4.3 Validasi Metode Analisis.....	33
3.4.3 Penetapan kadar residu oksitetrasiklin dalam sampel ikan lele	36
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Optimasi Kondisi Analisis	37
4.1.1 Optimasi Pelarut	37
4.1.2 Optimasi Eluen	38
4.1.3 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	39
4.1.4 Optimasi Kecepatan Aliran <i>Flow Rate</i>	40
4.1.2 Optimasi Konsentrasi Uji.....	41
4.2 Validasi Metode Analisis.....	43
4.2.1 Spesifisitas	43
4.2.2 Linieritas	45
4.2.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi (LOD & LOQ)	47
4.2.4 Presisi	49
4.2.4 Akurasi.....	52
4.3 Penetapan Kadar Residu Oksitetrasiklin.....	54
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Ikan lele.....	6
2.2 Struktur kimia oksitetrasiklin.....	11
2.3 Sistem kromatografi cair kinerja tinggi	16
2.4 Ilustrasi proses pemisahan yang terjadi di dalam kolom KCKT	20
2.5 Pengukuran derajat asimetri puncak	22
2.6 Contoh Peak Murni dan Tidak Murni	27
3.1 Diagram Alir Penetapan Kadar Oksitetrasiklin dalam Ikan Lele secara KCKT	30
4.1 Hasil Optimasi Pelarut Oksitetrasiklin: (Dari kanan ke kiri) Etanol, Aquabides, Asetonitril, dan Metanol	38
4.2 Hasil <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Maksimum	40
4.3 Spektra Standar Oksitetrasiklin pada berbagai Scan Panjang Gelombang	43
4.4 Spektra Sampel Oksitetrasiklin pada berbagai Scan Panjang Gelombang	44
4.5 Spektra Sampel dan Standar pada Panjang Gelombang Maksimum 365 nm	45
4.6 Kurva Linieritas Korelasi antara Konsentrasi (x) vs Area (y) pada Standar Oksitetrasiklin	46
4.7 Kurva Linieritas Korelasi antara Konsentrasi (x) vs Area (y) pada Standar Oksitetrasiklin	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 % <i>Recovery</i> Analit pada Konsentrasi yang Berbeda	25
2.2 Konsentrasi Analit vs KV/RSD	26
4.1 Hasil Optimasi Pelarut	38
4.2 Hasil Optimasi Eluen dan Perbandingan Efisiensi yang Dihasilkan	39
4.3 Perbandingan Parameter Efisiensi Kromatogram Pada Laju Alir yang Berbeda	41
4.4 Data Efisiensi Kromatogram Standar Oksitetrasiklin pada Berbagai Konsentrasi yang Dioptimasi	42
4.5 Data Konsentrasi dan Luas Area Standar Oksitatresiklin Hasil Uji Linieritas	46
4.6 Data Konsentrasi dan Luas Area Standar Natrium Benzoat dalam Pengujian Batas Deteksi dan Batas Kuantitas	48
4.7 Data Repetabilitas Presisi Residu OTC pada Pemberian Dosis 40 mg dengan n=6	50
4.8 Hasil Pengujian Intermediet Presisi dalam Tiga Hari Percobaan dengan n=6	50
4.9 Data Repetabilitas Presisi Residu OTC pada Pemberian Dosis 120 mg dengan n=6.....	51
4.10 Hasil Pengujian Intermediet Presisi dalam Tiga Hari Percobaan dengan n=6	51
4.11 Data Hasil Uji Akurasi Oksitetrasiklin dalam Sampel Daging Lele pada Dosis 40mg	53

4.12 Data Hasil Uji Akurasi Oksitetrasiklin dalam Sampel Daging	
Lele pada Dosis 120mg	53
4.13 Kadar Oksitetrasiklin dalam Sampel Daging Lele pada Dosis 40 mg	54
4.14 Kadar Oksitetrasiklin dalam Sampel Daging Lele pada Dosis 120 mg ..	54

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data Optimasi Pelarut	61
B. Data Optimasi Eluen	62
C. Data Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	64
D. Data Optimasi <i>Flow Rate</i>	65
E. Data Optimasi Konsentrasi Uji	67
F. Data Spesifisitas	68
G. Linieritas	69
H. Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi	71
I. Data Presisi	73
I.1 Uji Presisi Dosis 40 mg	73
I.2 Uji Presisi Dosis 120 mg	75
J. Hasil Akurasi Oksitetrasiklin dalam Ikan Lele	78
J.1 Hasil Uji Akurasi dengan Dosis 40 mg	78
J.2 Hasil Uji Akurasi dengan Dosis 120 mg	80
K. Data dan Perhitungan Kadar Oksitetrasiklin pada Sampel Daging	
Ikan Lele (% b/b)	82
K.1 Kadar Oksitetrasiklin dengan Dosis 40 mg	82
K.2 Kadar Oksitetrasiklin dengan Dosis 120 mg	83
L. Sertifikat Analisis Oksitetrasiklin	86