



**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE KCKT UNTUK
DETERMINASI RESIDU KLORAMFENIKOL DALAM IKAN LELE
DENGAN PEMBERIAN SECARA *INTRAABDOMINAL CAVITY***

SKRIPSI

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

Oleh :

Synthia Yolanda Putri

NIM 092210101015

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2013

PERSEMBAHAN

Dengan penuh syukur, skripsi ini kupersembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas segala limpahan karunia yang telah diberikan kepada saya, sehingga saya dapat berdiri tegar dan menyelesaikan skripsi saya;
2. Ayahanda Kariyono, SH. dan Ibunda Pipit Agustriningsih tercinta, yang telah mendoakanku di tiap sujudmu, memberikan kasih sayang dan pengorbanan yang tak tergantikan, terima kasih atas segala jerih payahmu demi kebahagiaan dan kesuksesanku;
3. Guru-guruku sejak TK hingga PT yang terhormat, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
4. Almamaterku Fakultas Farmasi Universitas Jember atas seluruh kesempatan menimba ilmu yang berharga ini.

MOTTO

Bertakwalah pada Allah maka Allah akan mengajarimu. Sesungguhnya Allah Maha Mengetahui segala sesuatu.
(terjemahan Surat Al-Baqarah ayat 282) *)

Barangsiapa bertawakkal kepada Allah, maka Allah akan memberikan kecukupan padanya, sesungguhnya Allah lah yang akan melaksanakan urusan (yang dikehendaki)-Nya.
(terjemahan Surat Ath-Thalaq ayat 3) *)

“Musuh yang paling berbahaya di atas dunia ini adalah penakut dan bimbang. Teman yang paling setia hanyalah keberanian dan keyakinan yang teguh” (Schopenhauer).

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

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Synthia Yolanda Putri

NIM : 092210101015

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul *“Pengembangan dan Validasi Metode KCKT untuk Determinasi Residu Kloramfenikol dalam Ikan Lele dengan Pemberian secara Intraabdominal Cavity”* 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, 23 Juli 2013
Yang menyatakan,

Synthia Yolanda Putri
NIM 092210101015

SKRIPSI

PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE KCKT UNTUK DETERMINASI RESIDU KLORAMFENIKOL DALAM IKAN LELE DENGAN PEMBERIAN SECARA *INTRAABDOMINAL CAVITY*

Oleh:

Synthia Yolanda Putri
NIM 092210101015

Pembimbing

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “*Pengembangan dan Validasi Metode KCKT untuk Determinasi Residu Kloramfenikol dalam Ikan Lele dengan Pemberian secara Intraabdominal Cavity*”, telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 23 Juli 2013

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

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

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

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

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

Dwi Koko P., S.Farm., Apt.
NIP 198504282009121004

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

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

Synthia Yolanda Putri

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRACT

*Chloramphenicol is a broad spectrum antibiotic that inhibit synthesis of bacterial protein and it has been used as a drug of choice in treatment of Salmonellosis tiffoid diseases. Chloramphenicol was widely used in farming on catfish (*Clarias gariepinus*) as well to prevent and treat of several diseases. It was provided intraabdominal cavity administration. The aim of this study was to determinate the residues of chloramphenicol in catfish. Determination of chloramphenicol levels was conducted by using high performance liquid chromatography (HPLC), involving RPC-18 Chibar® 250-4.6 HPLC column with mobile phase of methanol p.a : aquabidest (70:30 v/v) and flow rate 0,7 ml/minute, UV detector at 275 nm, was used to quantity chloramphenicol residue. Method validation procedure showed a good accuracy with percentage of recovery \pm SD doses 160 mg and 480 mg were 99.658 % \pm 0.832 and 99.360 \pm 0,376, respectively. Precision with relative standard deviation doses 160 mg and 480 mg of repeatability were 4.759% \pm 0,09 and 0.900% \pm 0,03 and intermediate precision were 2.009% \pm 0,04 and 0.662% \pm 0,02, respectively. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.788 ppm and 2.627 ppm, respectively. The results showed that there were chloramphenicol residues in the catfish that gived treatment for 2 weeks at doses of 160 mg and 480 mg were 1.953% \pm 0,04 and 2.926% \pm 0,05, respectively.*

Keywords : *catfish, chloramphenicol, HPLC, residues.*

RINGKASAN

Pengembangan dan Validasi Metode KCKT untuk Determinasi Residu Kloramfenikol dalam Ikan Lele dengan Pemberian secara *Intraabdominal Cavity*; Synthia Yolanda Putri, 092210101015; 2013; 78 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Kloramfenikol merupakan salah satu antibiotik yang sering digunakan oleh peternak ikan lele untuk pengobatan ikan lele. Pemakaian antibiotik dalam jangka panjang, tidak terkontrol dan tidak tepat dosis dapat menimbulkan dampak negatif. Dampak ini bukan saja dikhawatirkan dengan munculnya strain-strain bakteri resisten yang dapat membahayakan manusia, tetapi juga dapat mencemari lingkungan perairan, bahkan berdampak pada kesehatan manusia dengan adanya residu kimia dari antibiotik pada produk perikanan yang dikonsumsi, oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan determinasi residu kloramfenikol dalam ikan lele dengan pemberian secara *intraabdominal cavity*.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah optimasi kondisi analisis, validasi metode analisis, serta penentuan kadar residu kloramfenikol dalam ikan lele. Optimasi kondisi analisis meliputi optimasi pelarut, eluen, laju alir, panjang gelombang dan konsentration uji. Tahapan validasi metode meliputi spesifisitas, linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi, presisi dan akurasi. Tahap terakhir adalah penentuan kadar residu kloramfenikol yang terdapat dalam ikan lele secara KCKT.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum KCKT untuk determinasi residu kloramfenikol dalam ikan lele dengan pemberian secara *intraabdominal cavity* adalah menggunakan pelarut metanol p.a, eluen dengan komposisi metanol p.a : aquabides (70:30 v/v), fase diam RPC-18 Chibar® 250-4,6

HPLC *column*, laju alir 0,7 ml/menit, panjang gelombang 275 nm dan konsentrasi uji 10 ppm. Metode KCKT untuk determinasi residu kloramfenikol dalam ikan lele memberikan hasil analisis yang spesifik secara visual dengan spektra standar dan sampel yang identik, linier dengan koefisien korelasi = 0,998 dan $V_{x0} = 3,345$; sensitif dengan nilai batas deteksi = 0,788 ppm dan batas kuantitasi = 2,627 ppm, presis dengan RSD *repeatability* adalah $4,759\% \pm 0,09$ untuk dosis 160 mg dan $0,900\% \pm 0,03$ untuk dosis 480 mg, sedangkan nilai RSD *intermediet precision* adalah $2,009\% \pm 0,04$ untuk dosis 160 mg dan $0,662\% \pm 0,02$ untuk dosis 480 mg, dan akurat dengan nilai % *recovery* \pm SD adalah $99,658\% \pm 0,832$ untuk dosis 160 mg dan $99,360\% \pm 0,376$ untuk dosis 480 mg. Pada metode KCKT yang telah divalidasi dapat dilakukan suatu penetapan kadar residu kloramfenikol dalam ikan lele dengan pemberian secara *intraabdominal cavity* selama 2 minggu masa terapi sehingga diperoleh kadar rata-rata %b/b sebesar $1,953\% \pm 0,04$ untuk dosis 160 mg dan $2,926\% \pm 0,05$ untuk dosis 480 mg.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut diatas maka dapat disimpulkan bahwa metode KCKT yang dikembangkan dapat digunakan untuk determinasi residu kloramfenikol dalam ikan lele dengan pemberian secara *intraabdominal cavity*.

PRAKATA

Puji syukur diucapkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Pengembangan dan Validasi Metode KCKT untuk Determinasi Residu Kloramfenikol dalam Ikan Lele dengan Pemberian secara *Intraabdominal Cavity*”. 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. Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si, selaku Dosen Pembimbing Umum (DPU) dan Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm., selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) atas waktu, pikiran, perhatiannya dalam membimbing dan memberi petunjuk sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini;
2. Nia Kristiningrum, S.Farm. Apt., M.Farm., selaku Dosen Penguji I dan Dwi Koko P., S.Farm.,Apt., selaku Dosen Penguji II yang banyak memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Yudi Wicaksono S.Si.,Apt., M.Si, selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) yang telah membimbing dalam bidang akademik selama menjadi mahasiswa;
4. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran, kritik kepada penulis;
5. Bu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi, atas saran dan bantuannya selama penulis mengerjakan penelitian;

6. Orang tuaku tercinta Ayahanda Kariyono, SH., dan Ibunda Pipit Agustriningsih. Terima kasih atas limpahan kasih sayang, perhatian serta ketulusan doa yang terus mengalir serta segala pengorbanan selama ini;
7. Sahabat seperjuangan Hesti, Ina, Aang, Ditha, Retno, Wenny, Aminah Ika, Putri, dan Sasya, yang selalu memberikan semangat, dukungan dan kerja sama dalam menyelesaikan skripsi ini;
8. Teman sepermainanku Tika, Fitri, Mbak Windy, dan Mbak Yani *Thank you for being there, for showing me the path, and not running when i needed your help.*
9. Teman-teman satu angkatan 2009 Fakultas Farmasi, terima kasih atas persaudaraan, semangat, doa, dan kenangan indah yang tak terlupakan semasa kuliah;
10. Teman-teman JJMS (Mega, Andin, pipit, Mira, Kikik) terima kasih atas doa, persaudaraan dan semangatnya;
11. 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, 23 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	xii
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
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5

2.1 Kloramfenikol	5
2.2.1 Sifat Fisika Kimia	5
2.2.2 Kegunaan Umum	5
2.2.3 Farmakokinetika	6
2.2.4 Toksikologi	6
2.2 Ikan	6
2.2.1 Ikan Lele	7
2.2.2 Penyakit Lele	8
2.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	8
2.3.1 Instrumentasi KCKT.....	9
2.3.2 Kolom	9
2.3.3 Pompa	10
2.3.4 Tempat Penyuntikan Sampel	10
2.3.5 Detektor.....	11
2.3.6 Fase Gerak	12
2.3.7 Efisiensi Kromatogram	13
2.3.8 Proses Pemisahan dalam Kolom Kromatografi Cair	16
2.3.9 Keuntungan KCKT	17
2.4 Validasi Metode Analisis KCKT	18
2.4.1 Spesifisitas	19
2.4.2 Linieritas	20
2.4.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	21
2.4.4 Presisi.....	23
2.4.5 Akurasi.....	24
 BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	 26
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.2 Rancangan Penelitian.....	26
3.2.1 Rancangan Percobaan	26

3.2.2 Alur Penelitian	27
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.3.1 Alat.....	27
3.3.2 Bahan	28
3.4 Prosedur Penelitian	28
3.4.1 Preparasi sampel	28
3.4.2 Optimasi Kondisi Analisis	28
3.4.3 Validasi Metode Analisis	30
3.4.4 Penetapan kadar residu kloramfenikol dalam sampel ikan lele	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Optimasi Kondisi Analisis	34
4.1.1 Optimasi Pelarut	34
4.1.2 Optimasi Eluen	36
4.1.3 Optimasi Laju Alir.....	36
4.1.4 Optimasi Panjang Gelombang	37
4.1.5 Optimasi Konsentrasi Uji	38
4.2 Validasi Metode Analisis.....	39
4.2.1 Spesifisitas	39
4.2.2 Linieritas	41
4.2.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	43
4.2.4 Presisi.....	45
4.2.5 Akurasi.....	47
4.3 Penetapan Kadar Residu Kloramfenikol dalam Ikan Lele	49
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran	52

DAFTAR PUSTAKA 53
LAMPIRAN..... 55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia kloramfenikol.....	5
2.2 Lele dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>).....	7
2.3 Instrumentasi KCKT.....	9
2.4 Skema penyuntik keluk.....	11
2.5 t_R ; $W_{H/2}$; W_b ; dan σ suatu puncak kromatogram.....	14
2.6 Pengukuran resolusi 2 puncak yang berdekatan.....	15
2.7 <i>Tailing factor</i> pada kromatogram.....	16
2.8 Ilustrasi proses pemisahan yang terjadi di dalam kolom KCKT.....	17
3.1 Diagram alir penetapan kadar residu kloramfenikol dalam ikan lele secara KCKT.....	27
4.1 Hasil optimasi pelarut secara visual.....	35
4.2 Spektra standar kloramfenikol.....	39
4.3 Spektra sampel ikan lele yang mengandung kloramfenikol.....	40
4.4 Spektra standar kloramfenikol dan sampel ikan lele yang mengandung kloramfenikol.....	41
4.5 Kurva linieritas konsentrasi berbanding luas area kloramfenikol.....	42
4.6 Kurva linieritas konsentrasi berbanding luas area kloramfenikol pada penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi.....	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Parameter analisis untuk validasi metode	19
2.2 Kriteria penerimaan pengujian presisi untuk konsentrasi analit yang berbeda	23
2.3 Kriteria penerimaan pengujian akurasi untuk konsentrasi analit yang berbeda	25
4.1 Hasil optimasi pelarut berdasarkan visual dan parameter efisiensi kromatogram	35
4.2 Hasil optimasi eluen berdasarkan parameter efisiensi kromatogram	36
4.3 Hasil optimasi laju alir berdasarkan parameter efisiensi kromatogram	37
4.4 Hasil optimasi panjang gelombang berdasarkan parameter efisiensi kromatogram	37
4.5 Hasil optimasi konsentrasi uji berdasarkan parameter efisiensi kromatogram	38
4.6 Koefisien korelasi antara konsentrasi dan area standar kloramfenikol pada uji linieritas	42
4.7 Hasil analisis parameter linieritas dengan program validasi	43
4.8 Koefisien korelasi konsentrasi dan area standar kloramfenikol pada uji batas deteksi dan batas kuantitasi	44
4.9 Hasil presisi <i>repeatability</i> dosis 160 mg dengan n= 6	45
4.10 Hasil presisi <i>repeatability</i> dosis 480 mg dengan n= 6	46

4.11 Hasil pengujian <i>intermediet precision</i> dosis 160 mg dalam tiga hari percobaan dengan n=6	46
4.12 Hasil pengujian <i>intermediet precision</i> dosis 480 mg dalam tiga hari percobaan dengan n=6	46
4.13 Hasil akurasi residu kloramfenikol dosis 160 mg	47
4.14 Hasil akurasi residu kloramfenikol dosis 480 mg	48
4.15 Hasil penetapan kadar kloramfenikol (% b/b) dalam sampel ikan lele untuk dosis 160 mg	49
4.16 Hasil penetapan kadar kloramfenikol (% b/b) dalam sampel ikan lele untuk dosis 480 mg	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data optimasi pelarut, eluen, laju alir, panjang gelombang, dan konsentrasi uji	55
B. Gambar kromatogram optimasi pelarut, eluen, laju alir, panjang gelombang, dan konsentrasi uji	56
C. Spesifisitas	62
D. Linieritas	63
E. Batas deteksi dan batas kuantitasi	64
F. Presisi	65
G. Akurasi	69
H. Penetapan kadar residu kloramfenikol dalam sampel ikan lele	75