

## BAB I

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1.1. Telur

Telur dalam pengertian sehari-hari mempunyai dua kriteria yaitu sebagai bahan biologi dan sebagai bahan pangan. Sebagai bahan biologi, telur merupakan sumber nutrisi kompleks yang lengkap bagi pertumbuhan sel yang dibuahi. Sedangkan sebagai bahan pangan telur merupakan salah satu sumber protein hewani kedua yang mudah dijangkau setelah ikan. Sebagai bahan makanan, telur memiliki reputasi yang tinggi karena memiliki kandungan protein yang secara nyata menyumbang gizi yang diperlukan pada fase pertumbuhan. Oleh karena itu sangat tepat diberikan pada golongan masyarakat rawan gizi seperti ibu hamil dan menyusui, anak-anak pada usia pertumbuhan, orang tua maupun pekerja yang banyak menggunakan fisik.

Pada dasarnya telur tersusun dari kuning telur (*yolk*), putih telur (*albumen*), kerabang tipis, kerabang telur dan beberapa bagian lain yang cukup kompleks. Putih telur terdiri atas 88% air, protein (90% bahan kering atau kurang lebih 4 g protein/telur), mineral (6% bahan kering), glukosa bebas (3,5% bahan kering), dan sama sekali tidak terdapat lipida. Putih telur merupakan sumber protein utama dalam telur yang terdiri atas ovalbumin (merupakan protein utama), globulin, lisosom, ovomisin, avidin, flavoprotein, dan ovomukoid. Sedangkan

hampir 2/3 komposisi kuning telur terdiri atas lipoprotein yang kaya akan trigliserida (Yuwanta, 2004:116-120).

Dalam usaha memenuhi permintaan konsumen, produsen telur telah memulai memproduksi beberapa jenis telur yang dalam pembudidayaan ternaknya telah dimodifikasi untuk menghasilkan telur dengan kualitas tertentu, salah satunya adalah telur organik.

## **1.2. Obat Hewan**

Berdasarkan Peraturan Pemerintah (PP) Nomor 47 tahun 2014 tentang pengendalian dan penanggulangan penyakit hewan, obat hewan adalah sediaan yang dapat digunakan untuk mengobati hewan, membebaskan gejala, atau memodifikasi proses kimia dalam tubuh yang meliputi sediaan biologik, farmakoseutika, premiks, dan sediaan alami. Hal ini diatur regulasinya dalam PP Nomor 78 tahun 1992 tentang obat hewan, mengenai pembagian sediaan hewan yaitu:

1. Sediaan Biologik yang dimaksud adalah sediaan yang dihasilkan melalui proses biologik pada hewan atau jaringan hewan untuk menimbulkan kekebalan, mendiagnosa suatu penyakit atau menyembuhkan penyakit dengan proses imunologik.
2. Sediaan Farmasetik yang dimaksud meliputi antara lain vitamin, hormon, antibiotik dan kemoterapetika lainnya, obat antihistaminika, antipiretika, anestetika yang dipakai berdasarkan daya kerjanya.

3. Sediaan Premiks yang dimaksud meliputi imbuhan makanan hewan dan peengkap makanan hewan yang dicampurkan pada makanan hewan atau minuman hewan.

### 1.2.1. Antibiotik

Antibiotik (L. *anti* = lawan, *bios* = hidup) adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Turunan zat-zat ini yang dibuat secara semi sintesis, juga termasuk kelompok ini, begitu pula semua senyawa sintesis dengan khasiat antibakteri (Tjay dan Rahardja, 2007:65).

Pada dasarnya antibiotik memiliki 3 mekanisme kerja yaitu:

1. Menghambat biosintesis dinding sel
2. Meningkatkan permeabilitas membran plasma
3. Mengganggu sintesis protein normal

Berdasarkan daya kerjanya antibiotik dapat digolongkan menjadi 2 sifat yaitu bersifat spektrum luas (*spectrum broad*), yang artinya antibiotika memiliki kemampuan melawan sejumlah besar bakteri patogen (daya kerja luas). Kemudian sifat lainnya adalah spektrum sempit (*narrow spectrum*), yang artinya antibiotik memiliki daya kerja sempit atau spesifik. (Katzung, 2010:748-749)

### 1.2.2. Tetrasiklin

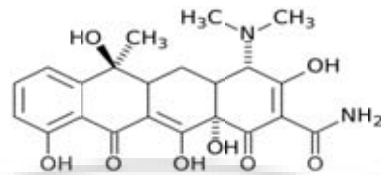
Menurut Gunawan dkk. pada buku Farmakologi dan Terapan edisi 5 tahun 2007, tetrasiklin merupakan senyawa basa yang sukar larut dalam air, tetapi dalam bentuk garamnya tetrasiklin mudah larut dalam air. Pada bentuk tersebut dalam

keadaan kering, tetrasiklin relatif lebih stabil dibandingkan dalam bentuk larutan atau cairan. Hal ini dapat mempengaruhi efek atau potensi yang ditimbulkannya.

Tetrasiklin mempunyai sifat bakteriostatik dengan mekanisme kerja menghambat sintesis protein dengan cara, antibiotik masuk melalui difusi pasif dan transpor aktif kemudian berikatan secara reversibel dengan ribosom 30s sehingga tidak terjadi perpanjangan rantai polipeptida. Walaupun bersifat bakteriostatik akan tetapi tetrasiklin mempunyai spektrum luas terhadap bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif, aerobik serta anaerobik.

Berdasarkan proses farmakokinetiknya, tetrasiklin mampu diabsorpsi sebanyak 30-80% melalui saluran cerna, namun proses absorpsi dapat dihambat oleh berbagai faktor seperti adanya makanan dalam lambung, pH, terjadi reaksi kompleks dengan beberapa senyawa logam yang sukar diserap dan biasanya ada dalam susu. Oleh karena itu penggunaan tetrasiklin diberikan sebelum atau 2 jam setelah makan. Sebagian besar golongan tetrasiklin dalam darah terikat pada protein plasma, dan mampu terakumulasi dalam hati, jaringan limpa, sumsum tulang, area dentin dan email gigi serta dapat melewati sawar urin sehingga kandungan tetrasiklin pada air susu ibu cukup tinggi. Pengeluaran atau proses eliminasi tetrasiklin terjadi di ginjal melalui mekanisme filtrasi glomerulus dan dikeluarkan melalui urin.

Struktur kimia tetrasiklin dapat dilihat sebagai berikut :



**Gambar I.1.** Struktur kimia senyawa tetrasiklin

Menurut Giguère et al pada tahun 2013, tetrasiklin adalah antibiotik yang paling sering digunakan dalam kedokteran hewan, merupakan pilihan pertama penggunaan obat pada makanan hewan, termasuk spesies budidaya binatang air, hewan hias dan madu. Akan tetapi penggunaannya pada binatang peliharaan, kuda, dan manusia lebih rendah. Pada hewan unggas, umumnya tetrasiklin digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Chlamydophylosis*, *Mycoplasma gallisepticum* (penyakit kronis pernafasan), *Mycoplasma synoviae*, *Pastereulla multocida* (penyakit kolera).

### 1.2.3. Regulasi Residu Tetrasiklin Dalam Makanan

Menurut CODEX pada tahun 2012 menetapkan batas maksimum residu (BMR) total untuk residu tetrasiklin pada produk unggas adalah 200 ng/g untuk daging, 600 ng/g untuk hati, 1200 ng/g untuk ginjal dan 400 ng/g untuk telur. Sedangkan di Indonesia Dewan Standarisasi Nasional pada tahun 2000 menetapkan BMR untuk residu tetrasiklin dalam daging adalah 100 ng/g dan dalam susu 50 ng/g serta untuk residu klortetrasiklin dalam daging adalah 100 ng/g, dalam telur 10 ng/g, dan 50 ng/g untuk susu.

### 1.3. Teknik Pemisahan

#### 1.3.1. Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan salah satu metode pemisahan, dimana prinsipnya didasarkan atas fenomena bahwa partikel yang tersuspensi di dalam suatu wadah (tabung atau bentuk-bentuk lain) akan mengendap ke dasar wadah karena pengaruh gravitasi. Laju pengendapan tersebut dapat ditingkatkan dengan cara meningkatkan pengaruh gravitasional terhadap partikel. Hal ini dapat dilakukan dengan menempatkan tabung berisi suspensi partikel ke dalam rotor suatu mesin sentrifugasi kemudian diputar dengan kecepatan tinggi. Kecepatan proses pengendapan (sedimentasi) suatu partikel atau molekul yang disentrifugasi dipengaruhi oleh dua macam faktor yaitu:

1. Berat molekul (BM), semakin tinggi BM maka kecepatan sedimentasi juga akan semakin tinggi.
2. Bentuk partikel, gerakan suatu partikel melalui cairan akan dipengaruhi oleh gaya gesekan. Partikel yang mempunyai bentuk lebih kompak akan bergerak lebih cepat di dalam cairan dibandingkan dengan partikel lain, yang bentuknya kurang kompak meskipun berat molekulnya sama (Yuwono, 2011:33-34).

Dua macam prinsip sentrifugasi yang umum digunakan untuk pemisahan partikel didasarkan atas massa, ukuran, panjang partikel dan densitas partikel.

Sentrifugasi dibagi menjadi dua jenis yaitu:

- a. Sentrifugasi Zonal, apabila partikel atau molekul berada di dalam suatu kolom cairan di dalam tabung kemudian disentrifugasi, maka partikel atau

molekul tersebut akan mengendap. Laju pengendapan tersebut ditentukan oleh massa partikel, perbedaan densitas antara partikel cairan dan gaya gesekan antara partikel dengan cairan. Jika partikel tersebut terdiri atas beberapa macam partikel yang berbeda ukuran atau panjangnya maka setelah disentrifugasi partikel-partikel tersebut akan terpisah pada lapisan lapisan (*zones*) yang berbeda pada tabung sentrifugasi (Yuwono, 2011:35).

- b. Sentrifugasi Keseimbangan Gradien-Densitas, dalam teknik sentrifugasi ini partikel berada dalam suatu cairan yang densitasnya bergradien dari atas ke bawah, misalnya larutan cesium klorida. Setelah disentrifugasi, partikel di dalam cairan tersebut akan berada di lapisan cairan yang densitasnya sama dengan densitas partikel tersebut. Meskipun disentrifugasi dengan kecepatan yang sangat besar, partikel tersebut tidak akan mengendap melalui lapisan cairan yang densitasnya lebih tinggi daripada partikel tersebut (Yuwono, 2011:35).

### 1.3.2. Ekstraksi Cair-cair (ECC)

Ekstraksi cair-cair merupakan metode yang sangat berguna untuk memisahkan analit yang dituju dengan cara melakukan partisi sampel antar dua pelarut yang saling tidak bercampur. Salah satu fasenya seringkali berupa air dan fase yang lain adalah pelarut organik seperti kloroform atau petroleum eter. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan ditemukan dalam fase air, sementara senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik akan masuk dalam pelarut organik. Selain itu ekstraksi pelarut juga digunakan untuk memekatkan analit yang ada

dalam sampel dalam jumlah kecil sehingga tidak memungkinkan atau menyulitkan untuk deteksi atau kuantitasnya (Rohman, 2009:30-31).

### 1.3.3. Ekstraksi Fase-Padat (*Solid Phase Extraction, SPE*)

Ekstraksi Fase-Padat mempunyai prinsip adsorpsi analit dalam pelarut yang memiliki daya elusi rendah pada medium SPE di dalam kolom. Analit yang dihasilkan dibilas menggunakan pelarut lain dengan daya elusi rendah dan dielusi kembali menggunakan pelarut kuat bervolume kecil. SPE banyak digunakan untuk pemisahan selektif analit dari senyawa pengganggu yang tidak mudah dicapai dengan ekstraksi cair-cair (Watson, 2009:420).

Pada umumnya fase terikat (*bonded-phase*) yang tersedia secara komersial adalah tipe siloksan yang memiliki ikatan Si-O-Si-C. Fasa tersebut di preparasi menggunakan reaksi anhidrasi silika gel silanol dengan monofungsional organokloro- atau organoalkoksisilens. *Bonded-phase* yang paling sering digunakan adalah fasa C18 karena dapat digunakan secara luas dalam HPLC yang kemudian pada awal 1980-an diadopsi untuk SPE. Selain itu fasa C18 merupakan fasa fleksibel untuk digunakan pada sampel cair dengan tingkat kepolaran yang luas (Thurman & Mills, 1998:29).

Fasa terbalik merupakan salah satu mekanisme penyerapan yang melibatkan partisi senyawa organik dari fasa gerak polar seperti air menuju fasa non-polar, seperti penyerap *bonded phase* C18. Mekanisme isolasinya adalah interaksi non-polar seperti ikatan van der Waals, gaya dispersi atau dengan partisi. Mekanisme partisi pada fase ini sama seperti ekstraksi cair-cair dengan perbedaan,



pada fasa ini fasa organiknya terikat secara kimiawi pada silika (Thurman & Mills, 1998:71-72).

#### **1.3.4. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

KCKT adalah teknik yang paling banyak digunakan untuk mengukur kuantitas obat dalam formula. KCKT mempunyai prinsip suatu fase gerak cair dipompa dibawah tekanan melalui kolom baja yang mengandung partikel-partikel fase diam dengan diameter 3-10  $\mu\text{m}$ . Analit tersebut dimasukkan ke dalam bagian atas kolom melalui katup lengkung dan pemisahan suatu campuran berlangsung sesuai dengan lamanya waktu relatif yang dibutuhkan komponennya di dalam fase diam. Semua komponen di dalam campuran membutuhkan waktu yang kurang lebih sama dalam fase gerak agar dapat keluar dari kolom. Pemantauan eluen kolom dapat dilakukan dengan berbagai detektor (Watson, 2009:314).

— Terdapat dua mekanisme penting yang menyebabkan penahanan suatu senyawa melewati kolom. Kedua mekanisme ini untuk gel silika yang merupakan pengemas fase normal dengan mekanisme penahanan melalui adsorpsi gugus polar suatu molekul pada gugus polar fase diam. silika gel tersalut-ODS (oktadesilsilen) termasuk ke dalam pengemas fase balik dengan mekanisme penahanan akibat partisi bagian lipofilik suatu molekul dalam fase diam. Sebagian besar senyawa akan tertahan tergantung pada polaritasnya pada silika gel dan terutama lipofilisitasnya dalam hal pengemas fase balik seperti silika gel-ODS. Sebagian besar molekul obat memiliki gugus polar dan lipofilik. Faktor lain yang perlu dipertimbangkan berkaitan dengan tingkat retensi senyawa, adalah sifat fase gerak. Semakin polar suatu fase gerak, maka akan semakin cepat fase tersebut

mengelusi senyawa dari kolom silika gel dan semakin lipofilik suatu fase gerak, semakin cepat fase tersebut akan mengelusi senyawa dari kolom fase balik (Watson, 2009:316-317).

#### **1.4. Validasi Metode Analisis**

Validasi metode menurut *United States Pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis bersifat akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Secara singkat validasi merupakan aksi konfirmasi bahwa metode analisis yang akan digunakan sesuai dengan tujuan yang diinginkan (Rohman, 2009:217).

Menurut Gandjar dan Rohman pada tahun 2007 validasi metode dapat ditentukan dengan menetapkan beberapa parameter tertentu yaitu:

##### **1.4.1. Akurasi**

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan penambahan analit dengan konsentrasi tertentu dalam suatu sampel.

##### **1.4.2. Presisi**

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari jumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Dokumentasi presisi seharusnya mencakup simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD), atau koefisien variasi (CV).

### 1.4.3. Linearitas

Linearitas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linearitas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linearitas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda.

### 1.4.4. Batas Deteksi (*Limit of Detection, LOD*)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu.

$$LOD = \frac{3 \times \left(\frac{S_y}{x}\right)}{b} \quad (1)$$

Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko, pada standar deviasi residual dari garis regresi, atau standar deviasi intersep y pada garis regresi.

### 1.4.5. Batas Kuantifikasi (*Limit of Quantification, LOQ*)

Batas Kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi.

$$LOQ = \frac{10 \times \left(\frac{S_y}{x}\right)}{b} \quad (2)$$