

**ANALISIS RESIDU GOLONGAN TETRASIKLIN PADA HATI
AYAM DI KAWASAN COBLONG KOTA BANDUNG
DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI**

SKRIPSI

Oleh:

HENDI ARI PERDIAN

NPM: 10060309020



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM BANDUNG
1436 H / 2015 M**

**ANALISIS RESIDU GOLONGAN TETRASIKLIN PADA HATI
AYAM DI KAWASAN COBLONG KOTA BANDUNG
DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI**

Diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk
menyelesaikan pendidikan dan memperoleh gelar Sarjana Farmasi
pada Program Studi Farmasi FMIPA Unisba

Oleh:

HENDI ARI PERDIAN
NPM: 10060309020

FEBRUARI 1436 H / 2015 M
BANDUNG

**JUDUL : ANALISIS RESIDU GOLONGAN TETRASIKLIN PADA
HATI AYAM DI KAWASAN COBLONG KOTA BANDUNG
DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA
TINGGI**
NAMA : HENDI ARI PERDIAN
NPM : 100600309020

Setelah membaca Skripsi ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami
telah memenuhi persyaratan ilmiah sebagai Skripsi

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

Diar Herawati, M.Si., Apt.
NIK. D. 07.0.445

Anggi Arum Sari S.Si., Apt.
NIK. D.08.0.480

Mengetahui

Dekan FMIPA Unisba

Ketua Program Studi Farmasi

M. Yusuf Fajar, Drs., M.Si.
NIP. 195610216986031002

Dr. Amir Musadad Miftah, Apt.
NIK. D. 12.0.575

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pemurah lagi Maha Penyayang)

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَبْصَارِ

Artinya ; *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan Bumi, dan silih bergantinya malam dan siang, terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (QS : Al-imran ayat 190).*

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ

السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ

رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya ; *Yaitu orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri dan duduk, dan dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi sambil berkata: "Ya Tuhan kami, Engkau tidak menciptakan ini dengan sia-sia! Maha Suci Engkau! Maka peliharalah kami dari siksa neraka." (QS : Al-imran ayat 191)*



Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebutkan nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.

Dengan mengucap syukur Alhamdulillah,
Kupersembahkan karya sederhana ini teruntuk semua
yang telah memberikan segala kasih sayang.

Allah SWT. Tiada Tuhan Selain Allah

Rasulullah Muhammad SAW.

Kedua Orang Tua, Darwin S.Pd dan Karyati S.Pd

yang telah memberikan begitu banyak kasih sayang dan Do'a yang tiada henti
selama ini.

Kedua Kakek Ahmad Roni dan Fauzi

Almamater UNIVERSITAS ISLAM BANDUNG

RIWAYAT PENULIS

BIODATA



Nama : HENDI ARI PERDIAN
Tempat/Tgl.Lahir : TANJUNG BULAN, 21 JANUARI 1991
Jenis Kelamin : LAKI-LAKI
Agama : ISLAM
Pekerjaan : MAHASISWA

Alamat : JLN.PURNAWARMAN NO.57

RT/RW : 002/002

Kelurahan : TAMAN SARI

Kecamatan : BANDUNG WETAN

Kota : BANDUNG

Telepon : 085287253585 (*Ponsel*)

Nama Ibu Kandung : KARYATI S.Pd.

Nama Ayah Kandung : DARWIN S.Pd.

Alamat Orang Tua : PERUM GRIYA SELATAN PERMAI 2 BLOK I No.
09 KECIPUNG

RT/RW : -/-

Kelurahan : BATU BELANG JAYA

Kecamatan : MUARA DUA

Kabupaten : OKU SELATAN

Telepon : 081271103321 (*Ponsel*)

PENDIDIKAN

1. SDN 02 TANJUNG BULAN (1997-2003)
2. MTs N 1 PULAU BERINGIN (2003-2006)
3. SMA SENTOSA BHAKTI BATURAJA (2006-2009)
4. Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung (2009-2015)



**ANALISIS RESIDU GOLONGAN TETRASIKLIN PADA HATI AYAM DI
KAWASAN COBLONG KOTA BANDUNG DENGAN METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

ABSTRAK

HENDI ARI PERDIAN

Email: ari.perdian21@gmail.com

Telah dilakukan penelitian mengenai analisis residu antibiotik golongan tetrasiklin pada hati ayam secara kualitatif dan kuantitatif. Preparasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut TCA (asam tri kloro asetat 20%) dan buffer Mc Illvaine, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 30 menit, lalu dilakukan penyaringan dengan menggunakan kolom SPE. Selanjutnya sampel diidentifikasi menggunakan KCKT (kromatografi cair kinerja tinggi) dengan fase gerak metanol, asam oksalat dan asetonitril (4:1) dan fase diam ODS (okta desil silica C 18) dengan panjang gelombang UV 355 nm. waktu retensi yang di dapat pada sampel A, B dan C masing – masing 2,300, 2,270, dan 2,177.

Kata kunci: Hati ayam, Tetrasiklin, Ekstraksi Fase Padat (EFP), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

**ANALYSIS OF RESIDUES OF ANTIBIOTICS THE TETRACYCLINE TO
THE HEART OF THE CHICKEN IN THE COBLONG AREA, BANDUNG
CITY BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY
METHOD**

ABSTRACT

HENDI ARI PERDIAN

Email: ari.perdian21@gmail.com

It has been done research on analysis of residues of antibiotics the tetracycline to the heart of the chicken in a qualitative and quantitative. The sample preparation is done using the solven TCA (acid tri kloro of acetic 20 %) and a buffer Mc Illvaine, then centrifuged with the speed of 2000 rpm for 30 minutes, and then be filtered by using SPE columns. Further samples in identification to use HPLC (High Performance Liquid Chromatography) with the mobile phase of methanol, oxalic acid and aetonitril (4:1) and still phase ODS (Okta Desil Silica C 18) with a wavelength UV 355 nm. retention time on sample A, B and C each 2.300, 2.270, and 2.177.

Keyword: Heart Of The Chicken, Tetracycline, Solid Phase Extraction (SPE), High Performance Liquid Chromatography.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT tuhan semesta alam atas berkat dan rahmat-Nya yang melimpah, sehingga dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **ANALISIS RESIDU GOLONGAN TETRASIKLIN PADA HATI AYAM DI KAWASAN COBLONG KOTA BANDUNG DENGAN METODE KCKT (KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI).**

Skripsi ini disusun untuk melengkapi salah satu syarat mencapai gelar sarjana Farmasi Universitas Islam Bandung. Dengan segala ketulusan hati penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Drs. M. Yusuf Fajar, M.Si, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Bandung.
2. Bapak Dr. Amir Musadad Miftah., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Islam Bandung.
3. Ibu Diar Herawati M.Si, Apt. dan Ibu Anggi Arumsari S.Si. Apt. yang telah membimbing penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini.
4. Bapak Suwendar M.Si, Apt. selaku dosen wali yang selalu memberikan bimbingan kepada penulis selama masa perkuliahan.
5. Bapak Reza Abdul Qodir dan Seluruh pengajar, yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan bagi penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Islam Bandung.

6. Kakek saya Ahmad Roni dan Fauzi ,serta keluarga besar di desa tanjung bulan yang selalu memberikan semangat dan doa terhadap penulis selama ini.
7. Hmi seruang lingkup Unisba, Bem-Unisba, Farmasi A 2009, teman seperjuangan Tammy muliana dewi, Randi Apriadi, Mujahidin, Imas, yang tiada hentinya mendukung dan menjadi teman yang baik selama penulis ada di Unisba.

Selanjutnya, secara khusus penulis sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada mama dan bapak tercinta Darwin S.pd, dan Karyati S.pd, yang tiada henti memberikan do'a, semangat serta dukungan selama penulis melaksanakan kewajiban sebagai mahasiswa sampai dengan selesai.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda atas jasa-jasa besar mereka. penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang Farmasi. Yakinkan Dengan Iman, Usahakan Dengan Ilmu, Sampaikan Dengan Amal, Beriman Berilmu dan Beramal.

Bandung, 15 Rabiul Akhir 1436 H

05 Februari 2015 M

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK
ABSTRACT
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR LAMPIRAN	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
PENDAHULUAN.....	1
BAB I TINJAUAN PUSTAKA	4
1.1 Tinjauan Antibiotik	4
1.1.1 Definisi Antibiotik	4
1.1.2 Mekanisme Kerja Antibiotik	4
1.1.3 Pengolongan Antibiotik	5
1.2 Tinjauan Tetrasiklin	5
1.2.1 Struktur Tetrasiklin	6
1.2.2 Pemerian Tetrasiklin	6
1.2.3 Pengertian Tetrasiklin	6
1.2.4 Mekanisme Kerja	7
1.2.5 Kegunaan	7
1.2.6 Farmakokinetika	8
1.2.7 Resistensi	8
1.3 Pemakaian Tetrasiklin Pada Ternak	9
1.3.1 Residu Tetrasiklin Pada Ternak	9
1.3.2 Efek Residu Antibiotik Dalam Produk Ternak	10
1.4 Struktur Hati Ayam	10
1.5 Tinjauan Alat	11
1.5.1 Sejarah	11
1.5.2 Kegunaan	11
1.5.3 Prinsip Kerja	12
1.5.4 Skema Alat.....	13
1.6 Tinjauan Fitokimia	13
1.6.1 Definisi Ekstraksi.....	13
1.6.2 Ekstraksi Fase Padat.....	13
1.7 Tinjauan Metode Validasi	14
1.7.1 Ketepatan (Akurasi)	15
1.7.2 Presisi	16
1.7.3 Batas Deteksi (<i>limit of detection</i> , LOD).....	17
1.7.4 Batas kuantifikasi (<i>Limit of Quantification</i> , LOQ)	18
1.7.5 Linearitas.....	19
1.7.6 Uji Kesusaian Sistem	19

BAB II METODOLOGI PENELITIAN.....	20
BAB III BAHAN DAN ALAT.....	22
3.1 Alat	22
3.2 Bahan	22
BAB IV PROSEDUR PENELITIAN	23
4.1 Pembuatan Larutan Baku	23
4.2 Pembuatan Larutan Trikloroasetat 20%	23
4.3 Pembuatan Larutan Buffer Mc Ilvaine	23
4.4 Pembuatan Metanol 5%.....	23
4.5 Pembuatan Larutan Metanol Oksalat	24
4.6 Pembuatan Larutan Fase Gerak.....	24
4.7 Proses Ekstraksi Sampel.....	24
4.8 Uji Linearitas	25
4.9 Penentuan Batas Konsentrasi Terendah	25
4.10 Uji Kesesuaian Sistem.....	25
4.11 Akurasi	26
4.12 Presisi	26
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
5.1 Preparasi Sampel	27
5.2 Pengujian Sampel	28
5.3 Uji Kesesuaian Sistem.....	29
5.4 Uji Linearitas	30
5.5 Akurasi	31
5.6 Presisi	32
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	33
6.1 Kesimpulan.....	33
6.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA	34



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1.1. Uji Kesesuaian Sistem	37
2.1. Perhitungan Koefisien Variansi.....	38
3.1. Perhitungan Akurasi.....	39
4.1. Perhitungan Presisi.....	40
5.1. Kurva Kalibrasi Dan Luas Area.....	41
6.1. Perhitungan Kadar.....	42
7.1. Gambar Kromatogram Sampel A.....	43
7.2. Gambar kromatogram Sampel A + Standar.....	43
8.1. Gambar kromatogram sampel B.....	44
8.2. Gambar kromatogram sampel B + Standar.....	44
9.1. Gambar kromatogram sampel C.....	45
9.2. Gambar kromatogram sampel C + Standar.....	45
10.1. Gambar kromatogram standar 0,1 ppm.....	46
10.2. Gambar kromatogram standar 0,3 ppm.....	46
10.3. Gambar kromaogram standar 0,5 ppm.....	47
10.4. Gambar kromaogram standar 1 ppm.....	47
10.5. Gambar kromaogram standar 2 ppm.....	48
10.6. Gambar kromaogram standar 3 ppm.....	48
10.7. Gambar kromaogram standar 4 ppm.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
V.2. Data Perhitungan Akurasi.....	31
V.3. Data Perhitungan Presisi.....	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1.2.1. Struktur kimia tetrasiklin.....	6
1.5.4. Instrumen KCKT.....	13
V.1. Kurva kalibrasi antara standar tetrasiklin dengan luas area.....	30



PENDAHULUAN

Di Indonesia peternakan merupakan salah satu komoditas dasar untuk memenuhi kebutuhan gizi maupun kesehatan pada manusia, diantaranya peternak ayam yang selalu menyuplai ayam ke pasar-pasar, baik pasar tradisional maupun pasar swalayan.

Daging ayam merupakan sumber protein hewani yang secara ekonomi terjangkau dan merupakan produk yang paling banyak di konsumsi masyarakat Indonesia. Di kota Bandung jumlah produksi setiap tahunnya selalu meningkat karena kebutuhan masyarakat akan daging ayam tersebut. Berdasarkan data BPS kota Bandung banyaknya produksi daging ayam pada tahun 2010 yaitu $1,59 \times 10^6$ kg dan pada tahun 2011 yaitu $17,0 \times 10^6$ kg.

Daging ayam yang beredar di kota Bandung sebagian besar berasal dari ayam pedaging. Ayam pedaging mampu tumbuh cepat sehingga dapat menghasilkan daging dalam waktu relatif singkat, yaitu 5-7 minggu. Ayam pedaging memiliki peran penting sebagai sumber protein hewani asal ternak (Resnawati, 2005:714-748).

Penambahan antibiotik ke dalam pakan ternak bertujuan untuk meningkatkan laju pertumbuhan berat badan atau memperbaiki laju efisiensi pakan Penggunaan obat-obatan tersebut meningkat tajam, khususnya pada sapi potong dan ayam pedaging untuk mempercepat laju pertumbuhan bobot badan (Sinaga, 2004).

Salah satu antibiotik yang banyak digunakan adalah golongan tetrasiklin untuk menghambat sintesis protein bakteri. Penggunaan antibiotik tersebut harus sesuai dengan aturan karena bila menyalahi aturan akan menimbulkan residu pada

produk ternak. Residu antibiotik dapat menimbulkan bahaya pada manusia yang mengkonsumsinya, seperti alergi, keracunan, gagalnya pengobatan akibat resistensi, dan gangguan jumlah mikroflora dalam saluran pencernaan (Murdiati, 1997).

Pemberian antibiotika pada hewan dalam peternakan skala besar umumnya diberikan melalui air minum dan dapat diikuti dengan pemberian antibiotika melalui pakan. Umumnya pemberian antibiotika yang diberikan pada ayam lebih banyak diberikan secara massal dibandingkan pemberian secara individual. Hal ini dilakukan untuk membuat hewan tetap produktif meskipun mereka hidup dalam kondisi berdesakan dan tidak higienis (Martaleni, 2007).

Hampir semua pabrik pakan menambahkan “obat hewan” berupa antibiotika ke dalam pakan komersial, sehingga sebagian besar pakan komersial yang beredar di Indonesia mengandung antibiotika. Apabila peternak yang menggunakan pakan tersebut tidak memperhatikan aturan pemakaiannya, diduga kuat produk ternak mengandung residu antibiotika yang dapat mengganggu kesehatan manusia, antara lain berupa resistensi terhadap antibiotika tertentu, reaksi alergi dan kemungkinan keracunan (Yuningsih, 2004).

Oleh karena itu residu-residu tersebut perlu mendapat perhatian yang serius, penggunaan antibiotik sebagai imbuhan pakan sudah merupakan kebiasaan yang dilakukan peternak ayam yang bertujuan untuk meningkatkan laju pertumbuhan yang berdampak positif pada peningkatan produktivitas ternak (Meyer, 1997).

Hati mempunyai tempat pengikatan senyawa-senyawa yang tidak bisa didetoksikasi atau tidak bisa dieksresikan, keadaan tersebut menyebabkan kadar residu obat termasuk antibiotik dalam hati menjadi lebih tinggi di bandingkan kadar residu dalam jaringan lain (Lu, 1995; Doull`s, 1996).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka rumusan permasalahan dalam penelitian ini adalah; Apakah hati ayam yang beredar di pasar-pasar kawasan Coblong Kota Bandung mengandung tetrasiklin melebihi batas maksimum yang ditetapkan SNI (Standar Nasional Indonesia).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pengkonsumsi maupun pembeli daging ayam agar lebih berhati-hati dan cermat dalam mengkonsumsi hati ayam, dan hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1. Tinjauan Antibiotik

Pada bagian tinjauan antibiotik ini akan diuraikan mengenai definisi antibiotik, mekanisme kerja antibiotik, dan penggolongan antibiotik.

1.1.1. Definisi Antibiotik

Menurut definisi Waksman, antibiotika adalah zat yang dibentuk oleh mikroorganisme yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme lain. Definisi ini harus diperluas karena zat yang bersifat antibiotik dapat pula dibentuk oleh beberapa hewan dan tanaman tinggi. Sejak ditemukannya antibiotik oleh *Alexander Fleming* sampai saat ini sudah beribu-ribu antibiotik yang ditemukan, dan hanya sebagian kecil yang dapat dipakai untuk maksud terapeutik. Yang berguna hanyalah antibiotik yang mempunyai kadar hambatan minimum (KHM) *in vitro* lebih kecil dari kadar zat yang dapat dicapai dalam tubuh dan tidak toksik (Mutschler, 2006:634).

1.1.2. Mekanisme kerja Antibiotik

Mekanisme kerja antibiotik umumnya dapat dijelaskan secara terperinci;

- 1) Menghambat biosintesis dinding sel
- 2) Meninggikan permeabilitas membran sitoplasma
- 3) Mengganggu sintesis protein normal.

Umumnya, antibiotika yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membran sel bekerja pada sintesis bakterisid, sedangkan yang bekerja pada sintesis protein bekerja bakteriostatik (Mutschler,2006:634-635).

1.1.3. Penggolongan Antibiotik

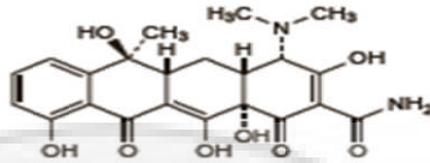
Berdasarkan struktur kimianya, antibiotika dapat digolongkan menjadi beberapa golongan, yaitu golongan β laktam; penisilin, ampisilin; golongan aminoglikosida: gentamisin, streptomisin; golongan tetrasiklin: tetrasiklin, oksitetrasiklin; golongan makrolida: tilosin, tilmikosin; golongan peptida: basitrasin, kolostin; golongan polietar: salinomisin, monensin dan golongan kloramfenikol: kloramfenikol, tiamfenikol (Katzung, 2010:748).

Berdasarkan daya kerjanya antibiotik dapat digolongkan menjadi 2 sifat, yaitu bersifat kemampuan spektrum luas (*Spectrum Broad*), yang artinya antibiotika memiliki kemampuan melawan sejumlah besar bakteri patogen (daya kerja luas). Sebagai contoh dalam golongan ini adalah tetrasiklin. Kemudian sifat lainnya adalah spektrum sempit (*Narrow Spectrum*), yang artinya antibiotika memiliki daya kerja sempit atau spesifik, misalnya antibiotika penisilin dan tiamfenikol (Katzung, 2010:748-749).

1.2. Tinjauan Tetrasiklin

Tinjauan mengenai tetrasiklin ini meliputi; struktur tetrasiklin, pemerian tetrasiklin, pengertian tetrasiklin, mekanisme kerja, kegunaan, farmakokinetika dan resistensi.

1.2.1. Struktur Tetrasiklin



Gambar 1.2.1 Struktur Tetrasiklin
(Martindale, 2009: 347)

1.2.2. Pemerian Tetrasiklin

Serbuk hablur, kuning, tidak berbau, stabil di udara tetapi pada pemaparan dengan cahaya matahari kuat menjadi gelap. Dalam larutan dengan pH lebih kecil dari 2, potensi berkurang, dan cepat rusak dalam larutan alkil halida. Tetrasiklin sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam larutan asam encer dan dalam etanol, praktis tidak larut dalam larutan alkil hidroksida (Depkes RI, 1995:778).

1.2.3. Pengertian Tetrasiklin

Tetrasiklin adalah antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang menghambat sintesis protein. Tetrasiklin bekerja aktif terhadap banyak bakteri Gram positif dan Gram negatif, termasuk bakteri anaerob, riketsia, klamidia, mikoplasma, dan bentuk L, dan terhadap beberapa protozoa, misalnya amoeba.

Antibiotik golongan tetrasiklin yang pertama ditemukan ialah klortetrasiklin yang dihasilkan oleh *Streptomyces aureofaciens*. Tetrasiklin sendiri dibuat secara semisintetik dari klortetrasiklin tetapi juga diperoleh dari spesies *Streptomyces* lain.

Tetrasiklin merupakan basa yang sukar larut dalam air, tetapi bentuk garam natrium atau garam HCL nya mudah larut. Dalam keadaan kering bentuk basa dan HCL tetrasiklin bersifat relatif stabil. Dalam larutan, kebanyakan

tetrasiklin sangat labil sehingga cepat berkurang potensinya (Setiabudi, 2011:694).

1.2.4. Mekanisme Kerja

Tetrasiklin bekerja baik pada mikroba ekstrasel maupun intrasel, tipe kerjanya bakteriostatik. Mekanisme kerjanya yaitu hambatan pada sintesis protein ribosom dengan menghambat pemasukan aminoasil t-RNA pada fase pemanjangan yang termasuk fase translasi ini akan menyebabkan *blockade* perpanjangan rantai peptida (Mutschler, 2006:650-651).

1.2.5. Kegunaan

Tetrasiklin merupakan obat pilihan untuk infeksi *Mycoplasma pneumonia*, klamidia, ricketsia, dan beberapa spirokaeta. Tetrasiklin digunakan dalam regimen kombinasi untuk mengobati ulkus lambung dan duodenum akibat *Helicobacter pylory*, obat ini dapat pula digunakan dalam berbagai infeksi Gram positif dan Gram negatif, termasuk infeksi vibrio, asalkan organisme tersebut tidak resisten. Pada kolera, tetrasiklin cepat menghentikan pengeluaran vibrio, tetapi tampaknya muncul resistensi terhadap tetrasiklin selama terjadinya epidemik. Tetrasiklin tetap efektif pada sebagian besar infeksi klamidia, termasuk penyakit menular seksual. Tetrasiklin tidak lagi direkomendasikan untuk terapi penyakit gonokokus karena adanya resistensi. Suatu tetrasiklin biasanya dalam kombinasi dengan aminoglikosida diindikasikan untuk pes, tularemia, dan bruselosis. Tetrasiklin kadang digunakan dalam terapi infeksi protozoa, misalnya akibat *Entamoeba histolytica* atau *Plasmodium falcifarum*. Penggunaan lainnya meliputi terapi

jerawat, *eksaserbasi bronchitis*, pneumonia yang didapat dari masyarakat dan infeksi saluran kemih (Katzung, 2010:770).

1.2.6. Farmakokinetika

Absorpsi kira- kira 30-80% tetrasiklin diserap lewat saluran cerna. Absorpsi ini sebagian besar berlangsung di lambung dan usus halus bagian atas. Semua jenis tetrasiklin didistribusikan didalam plasma yang terikat oleh protein plasma dalam jumlah yang bervariasi. Masa paruh tidak berubah pada insufisiensi ginjal sehingga obat ini boleh diberikan pada gagal ginjal. Obat golongan ini tidak dimetabolisme secara berarti dihati. Doksisisilin dan minoksiklin mengalami metabolisme di hati yang cukup berarti sehingga aman diberikan pada pasien gagal ginjal. Golongan tetrasiklin diekresikan melalui urin berdasarkan filtrasi glomerulus (Setiabudi, 2011:695- 696).

1.2.7. Resistensi

Terdapat tiga mekanisme resistensi terhadap analog tetrasiklin;

- 1) Gangguan influks atau peningkatan efluks oleh pompa protein transport aktif
- 2) Proteksi ribosom akibat produksi protein yang mengganggu ikatan tetrasiklin dengan ribosom
- 3) Inaktivasi enzimatik.

Mekanisme terpenting dari ketiganya adalah produksi pompa efluks dan proteksi ribosomal. Spesies Gram negatif mengekspresikan suatu pompa efluks (Katzung, 2010:768-769).

1.3. Pemakaian Tetrasiklin Pada Ternak

Semakin berkembangnya jenis antibiotik dalam bidang peternakan, terutama untuk meningkatkan produksi peternakan, maka para peternak perlu mengetahui cara-cara pemberian dan pemakaian macam antibiotika secara selektif dan sesuai dengan tujuan, seperti;

1) Untuk pengobatan sehingga mengurangi resiko kematian dan mengembalikan kondisi ternak yang dapat berproduksi kembali (normal), juga mencegah tersebarnya mikroorganisme patogen pada ternak lainnya.

2) Untuk memacu pertumbuhan (*promotor growth*), sehingga dapat mempercepat pertumbuhan atau meningkatkan produksi hasil ternak serta mengurangi biaya pakan (Yuningsih, 2004).

1.3.1. Residu Tetrasiklin Pada Ternak

Residu merupakan sejumlah senyawa yang tertinggal didalam produk (makanan) hewani, dan tidak membahayakan jika dikonsumsi selama konsentrasi residu di bawah ambang toksisitas. Residu dapat terjadi dalam produk hewani karena kurangnya pengertian tentang *withdrawal time*, penggunaan obat yang tidak tepat, pemakaian obat yang sudah kadaluarsa, kontaminasi dalam pakan, pencampuran suplemen yang tidak tepat (Brady dan Katz, 1992).

Tetrasiklin merupakan salah satu golongan antibiotika yang cukup banyak dipakai dalam pengobatan ternak. Pada unggas pengobatan dilakukan dengan menambahkan antibiotik langsung pada pakan, air minum, atau dalam bentuk aerosol. Selain sebagai pengobatan senyawa tetrasiklin juga diberikan dalam dosis subterapeutik sebagai pemacu pertumbuhan (Chopra dan Robert, 2001).

1.3.2. Efek Residu Antibiotik dalam Produk Ternak terhadap Kesehatan

Pemakaian antibiotika dapat menyebabkan beberapa masalah, apabila pemberian antibiotika tidak beraturan yang dapat menyebabkan residu dalam jaringan-jaringan atau organ hewan. Kemudian residu ini dapat membahayakan kesehatan bagi manusia yang mengkonsumsinya, yang dapat menyebabkan reaksi alergi yaitu dapat mengakibatkan peningkatan kepekaan, kemudian reaksi resistensi akibat konsumsi dalam konsentrasi rendah dalam jangka waktu yang lama (Yuningsih, 2004).

Organ tubuh yang paling berperan dalam proses eliminasi obat adalah ginjal, obat dapat di keluarkan dalam bentuk yang tidak berubah atau dalam bentuk metabolit, obat juga dapat di eliminasi melalui sistem empedu masuk ke dalam usus kecil dan dieliminasi melalui feses, eliminasi jalur ini masih memungkinkan terjadi reabsorpsi. Jalur eliminasi obat lainnya adalah melalui air ludah (Lendhanie,2002).

Dengan bahayanya efek residu terhadap kesehatan, maka ada ketentuan nilai Batas Maksimum Residu (BMR) dalam produk ternak untuk masing- masing antibiotika yang berdasarkan Standar Nasional Indonesia. Untuk batas maksimum residu tetrasiklin untuk hati yaitu 0,6000 ppm (Standar Nasional Indonesia, 2001).

1.4. Struktur Hati Ayam

Hati atau liver bervariasi, baik lokasi maupun jumlah lobulnya dari satu spesies hewan ke spesies yang lainnya, tetapi hati selalu terletak persis di belakang diafragma (Frandsen, 1992).

Hati mempunyai dua lobus primer dan merupakan tempat utama dalam proses absorpsi nutrisi dan produksi dari asam empedu dan garam empedu (Klasing,1999).

Fungsi hati adalah mensekresikan cairan empedu, menetralkan kondisi asam dari saluran usus dan mengawali pencernaan lemak dengan membentuk emulsi (Amrullah, 2004).

1.5. Tinjauan Alat

1.5.1. Sejarah

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi atau KCKT atau biasa juga disebut dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dikembangkan pada akhir tahun 1960-an dan awal tahun 1970-an. Saat ini, KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang antara lain; farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri-industri makanan. Beberapa perkembangan KCKT terbaru antara lain; miniaturisasi sistem KCKT, penggunaan KCKT untuk analisis asam nukleat, analisis protein, analisis karbohidrat, dan analisis senyawa - senyawa kiral (Golib dan Rahman, 2011:378).

1.5.2. Kegunaan

Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis, analisis ketidakmurnian (*impurities*), analisis senyawa-senyawa tidak mudah menguap (non- volatil , penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun zwitter ion, isolasi dan pemurnian senyawa, pemisahan senyawa-senyawa yang strukturnya hampir sama,

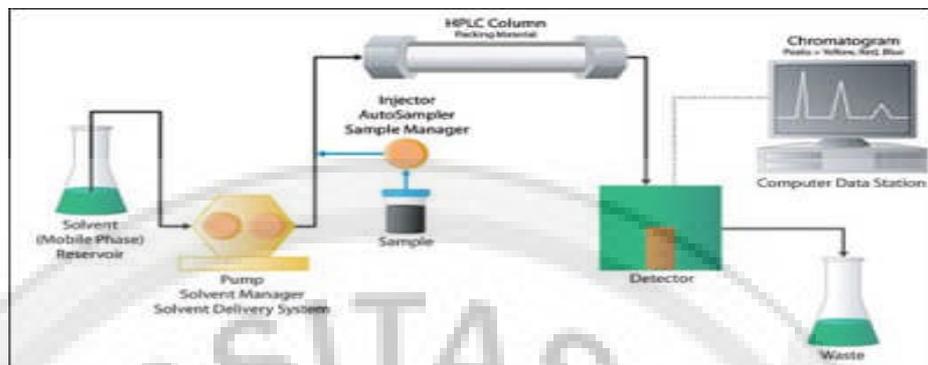
pemisahan senyawa-senyawa dalam jumlah sekelumit (*trace elements*), dalam jumlah banyak, dan dalam skala proses industri. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif (Golib dan Rahman, 2011:378).

KCKT paling sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam amino, asam nukleat, dan protein dalam cairan fisiologis, menentukan kadar senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk degradasi dalam sediaan farmasi, monitor sampel-sampel yang berasal dari lingkungan, memurnikan senyawa dalam suatu campuran, memisahkan polimer dan menentukan distribusi berat molekulnya dalam suatu campuran, kontrol kualitas, dan mengikuti jalannya reaksi sintesis (Golib dan Rahman, 2011:378).

1.5.3. Prinsip Kerja

Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut ini diatur oleh distribusi solut dalam fase gerak dan fase diam (Golib dan Rahman, 2011:379).

1.5.4. Skema alat



Gambar 1.5.5 Skema alat KCKT

1.6. Tinjauan Fitokimia

1.6.1. Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pengambilan konstituen dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi dengan pelarut dapat dibagi menjadi dua yaitu cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin (untuk zat dengan kandungan yang tidak tahan pemanasan), terdiri dari perkolasi dan maserasi. Sementara itu, ekstraksi cara panas (untuk zat dengan kandungan yang tahan pemanasan), antara lain terdiri dari refluks, Soxhlet, digesti, infus dan dekok (Voigt, 1995).

1.6.2. Ekstraksi Fase Padat

Prinsip dari ekstraksi fase padat yaitu analit diperangkap (*dead stopped*) pada medium EFP dengan cara memasukkannya pada selongsong didalam suatu pelarut yang memiliki daya mengelusi rendah, analit tersebut kemudian dapat dibilas dengan pelarut lain yang berdaya elusi rendah kemudian akhirnya dielusi dengan pelarut kuat bervolume kecil. Ekstraksi Fase Padat bermanfaat untuk

pemisahan selektif pengganggu-pengganggu dari analit, yang tidak mudah dicapai dengan ekstraksi cair-cair.

Metode ini juga banyak digunakan dalam pengukuran bioanalisis dan pemantauan lingkungan untuk memekatkan Spora analit.

Kelebihan metode Ekstraksi Fase Padat yaitu;

- 1) Fase padat tidak bercampur dengan pelarut sehingga, setelah pengisian sampel, serangkaian kondisi pembilasan dapat digunakan untuk menghilangkan pengganggu dengan cara memiliki banyak pilihan pelarut pembilas
- 2) Sifat kimia adsorban dapat bervariasi sehingga selektif untuk suatu gugus fungsi tertentu di dalam analit
- 3) Emulsi tidak terbentuk diantara dua fase
- 4) Suatu sampel dalam larutan bervolume besar dapat diperangkap (*dead stopped*) pada kolom sehingga menjadi pekat (Watson, 2011:420-428).

1.7. Tinjauan Metode Validasi

Validasi metode menurut *United states pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, refrodusibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi problem analisis, karenanya suatu metode harus di validasi, ketika;

- 1) Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu

- 2) Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karenanya munculnya suatu problem yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi
- 3) Penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu
- 4) Metode baku digunakan di laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analisis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda
- 5) Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku.

Menurut USP (*united states pharmacopeia*), ada beberapa langkah dalam validasi metode analisis diantaranya;

1.7.1.ketepatan (Akurasi)

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi di ukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan spiking pada suatu sampel. Untuk pengujian senyawa obat, akurasi diperoleh dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar (*standard reference material, SRM*).

Untuk mendokumentasikan akurasi, ICH merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Data harus dilaporkan sebagai persentase perolehan kembali.

1.7.2. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Sesuai dengan ICH, presisi harus dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda yaitu; keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*) dan ketertiruan (*reproducibility*), Keterulangan yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya.

- 1) Presisi antara yaitu ketetapan (*precision*) pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya.
- 2) Ketertiruan merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium yang lain.

Dokumentasi presisi seharusnya mencakup: simpangan baku, simpangan baku relative (RSD) atau koefisien variasi (CV), dan kisaran kepercayaan. pengujian presisi pada saat awal validasi metode sering kali hanya menggunakan 2 parameter yang pertama, yaitu: keterulangan dan presisi antara. Reprodusibilitas biasanya dilakukan ketika akan melakukan uji banding antar laboratorium. Presisi seringkali diekspresikan dengan SD atau standar deviasi relative (RSD) dari serangkaian data. Sementara itu nilai RSD dirumuskan dngan:

$$RSD = \frac{100 \times SD}{\bar{x}}$$

yang mana \bar{x} merupakan rata-rata data, dan SD adalah standar deviasi serangkaian data.

Data untuk menguji presisi seringkali dikumpulkan sebagai bagian kajian-kajian lain yang berkaitan dengan presisi seperti linieritas atau akurasi. Biasanya

replikasi 6-15 dilakukan pada sampel tunggal untuk tiap-tiap konsentrasi. Pada pengujian dengan KCKT, nilai RSD antara 1-2% biasanya dipersyaratkan untuk senyawa-senyawa aktif dalam jumlah yang banyak; sedangkan untuk senyawa-senyawa dengan kadar sekelumit, RSD berkisar antara 5-15%.

1.7.3 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. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko (y_b) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ($3S_b$)

LOD seringkali diekspresikan sebagai suatu konsentrasi pada rasio signal terhadap derau (*signal to noise ratio*) yang biasanya rasionya 2 atau 3 dibanding 1. ICH mengenalkan suatu konvensi metode *signal to noise ratio* ini, meskipun demikian ICH juga menggunakan 2 metode pilihan lain untuk menentukan LOD yakni: metode non instrumental visual dan dengan metode perhitungan. metode non instrumental visual digunakan pada teknik kromatografi lapis tipis dan pada metode titrimetri. LOD juga dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (*slope*) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus, $LOD = 3,3 (SD/S)$. 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.

1.7.4. 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 (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan). Kadang-kadang rasio *signal to noise* 10:1 digunakan untuk menentukan LOQ, Perhitungan LOQ dengan rasio *signal to noise* 10:1 merupakan aturan umum, meskipun demikian perlu diingat bahwa LOQ merupakan suatu kompromi antara konsentrasi dengan presisi dan akurasi yang dipersyaratkan. Jadi, jika konsentrasi LOQ menurun maka presisi juga menurun. Jika presisi tinggi dipersyaratkan, maka konsentrasi LOQ yang lebih tinggi harus di laporkan.

ICH mengenalkan metode rasio *signal to noise* ini, meskipun demikian sebagaimana dalam perhitungan LOD, ICH juga menggunakan 2 metode pilihan lain untuk menentukan LOQ yaitu: (1) metode non instrumental visual dan (2) metode perhitungan. Sekali lagi, metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon (SD) dan *slope* (S) kurva baku sesuai dengan rumus: $LOQ = 10(SD/S)$. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis regresi linear atau dengan standar deviasi intersep-y pada garis regresi.

1.7.5. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (slope), intersep, dan koefisien kolerasinya.

1.7.6. Kesesuaian sistem

Kesesuaian sistem didefinisikan sebagai serangkaian uji untuk menjamin bahwa metode tersebut dapat menghasilkan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Hal ini dapat dilakukan dengan percobaan kesesuaian sistem yang didefinisikan sebagai serangkaian uji untuk menjamin bahwa metode tersebut dapat menghasilkan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Persyaratan-persyaratan kesesuaian sistem biasanya dilakukan setelah dilakukan pengembangan metode dan validasi metode (Golub dan Rahman, 2011:463-480).

BAB II

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menganalisis residu tetrasiklin pada hati ayam dengan menggunakan alat KCKT. Tahap-tahap yang dilakukan dalam menganalisis residu tetrasiklin dalam hati ayam ini meliputi; pengumpulan bahan, pengolahan bahan, ekstraksi fase padat, serta analisis data secara statistik. Rancangan penelitian yang dilakukan adalah pembuatan larutan baku yang merupakan stok larutan baku yang nantinya akan diencerkan menjadi larutan baku campuran, kemudian digunakan sebagai larutan baku kerja. Larutan baku kerja diinjeksikan setiap akan melakukan analisis dengan menggunakan alat KCKT.

Pembuatan larutan Trikloroasetat 20% digunakan untuk melarutkan sampel hati ayam, pembuatan larutan Buffer Mc Illvaine merupakan larutan yang digunakan untuk mengekstrak hati ayam, pembuatan larutan metanol 5% yang digunakan untuk mencuci kolom SPE setelah ekstrak sampel di lewatkan, Pembuatan larutan metanol oksalat merupakan pelarut untuk elusi kolom SPE, yang di dalamnya sudah dilewatkan ekstrak sampel hati ayam,

Pembuatan larutan fase gerak merupakan larutan campuran dari berbagai bahan kimia, air, dan pelarut organik dan digunakan sebagai fase gerak pada alat KCKT, dan terakhir dilakukan ekstraksi sampel dengan menempatkan daging ayam yang telah digiling di dalam tabung sentrifuga, lalu disentrifuga pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit, larutan hasil sentrifuga dipisahkan dari

residunya kemudian dimasukan kedalam kolom SPE. Setelah proses ekstraksi selesai, filtrat dipindahkan di cawan penangas sampai kering, kemudian dilarutkan dengan metanol selanjutnya sampel dianalisis dengan menggunakan KCKT.

Setelah itu dilakukan uji linieritas yaitu kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematika terhadap konsentrasi analit dalam sampel, biasanya dinyatakan dalam variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematika dari data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Persamaan dinyatakan dengan rumus $y = a + bx$, di mana a adalah intersep dan b adalah kemiringan garis dengan koefisien korelasi 0,995. Penentuan batas konsentrasi terendah dilakukan sebelum mencari limit deteksi alat. Larutan standar tetrasiklin standar terendah yang dapat terbaca pada alat KCKT kemudian diinjek sebanyak lima kali ulangan, kemudian dihitung respons simpangan bakunya menggunakan rumus: Limit of detection (LOD) = $x + k \cdot SD$ dimana x adalah luas puncak rata-rata konsentrasi terendah, SD (standar deviasi) adalah simpangan baku luas puncak blanko, nilai k adalah 3 untuk LOD (Anastasia, 2011).

BAB III

ALAT DAN BAHAN

3.1. Alat-alat

Alat yang digunakan yaitu KCKT Agilent Technologies, 1220 infinity LC kolom C18 dan C8, Detektor UV-Vis, tabung sentrifuga, labu takar 100 ml, labu takar 2 ml, labu takar 5 ml, labu takar 100 ml, kolom SPE, penyaring vakum dengan kertas saring 0,45 μm , gas nitrogen, mikropipet, erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur, batang pengaduk, pipet tetes, vial kecil, dan sudip.

3.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah hati ayam yang diambil dari tiga pasar tradisional dan satu dari pasar modern yang berada di kecamatan Coblong, standar tetrasiklin sebagai pembanding, asam sitrat monohidrat, dinatrium hidrogenphospat dihidrat, garam dinatrium EDTA, asam oksalat, metanol, asetonitril, asam trikoloro asetat, akuabides.

BAB IV

PROSEDUR

4.1. Pembuatan Larutan Baku

Untuk membuat larutan baku ini ditimbang 100 mg standar tetrasiklin, kemudian dilarutkan dengan metanol, lalu dimasukkan ke dalam labu takar dan ditempatkan 100 ml untuk mendapatkan konsentrasi larutan standar sebanyak 500 µl larutan standar tetrasiklin, lalu masukkan ke labu takar 5 ml, kemudian ditepatkan dengan metanol sehingga didapat larutan standar antibiotik tetrasiklin.

4.2. Pembuatan Larutan Trikloroasetat 20%

Pembuatannya dilakukan dengan menimbang 10 g asam trikloroasetat kemudian dilarutkan dengan akuabides, setelah itu dimasukkan ke dalam labu takar 50 ml dan ditera dengan akuabides.

4.3. Pembuatan Larutan Bufer Mc Illvaine

Pembuatan larutan Buffer Mc Illvaine dilakukan dengan cara menimbang masing-masing 1,18 g asam sitrat monohidrat, 3,362 g dinatrium hidrogenphosphat dihidrat, dan 1,372 g garam dinatrium EDTA lalu dimasukkan kedalam labu takar 100 ml, diencerkan dan ditera dengan akuabides.

4.4. Pembuatan Metanol 5 %

Pembuatan larutan metanol 5 % di lakukan dengan cara menuang metanol 5 ml kedalam labu takar 100 ml kemudian ditera dengan akuabides.

4.5. Pembuatan Larutan Metanol Oksalat

Larutan metanol oksalat dibuat dengan cara menimbang 1,297 g asam oksalat dan dilarutkan dengan metanol p.a kemudian dituang ke dalam labu takar 50 ml serta ditera dengan metanol p.a.

4.6. Pembuatan Larutan Fase Gerak

Pembuatan fase gerak dilakukan dengan cara mencampur 200 ml metanol dengan asam oksalat 0,0025 M dengan 50 ml asetonitril, setelah itu campuran di saring dengan menggunakan penyaring vakum dengan kertas saring 0,45 μm , sehingga diperoleh perbandingan metanol dan asam oksalat 4:1 (v/v).

4.7. Proses Ekstraksi Sampel

Sebanyak 5 g hati ayam yang telah digiling ditempatkan dalam tabung sentrifuga, setelah itu di tambahkan 2 ml larutan asam trikloro asetat 20% kemudian diaduk, sampel ditambahkan 18 ml larutan Buffer Mc Ilvaine-EDTA kemudian di putar pada kecepatan 2.000 rpm selama 20 menit, larutan supernatan hasil sentrifuga dipisahkan dari residunya kemudian dimasukkan ke dalam kolom SPE sebelumnya kolom SPE diaktifkan dahulu dengan 10 ml metanol dan 10 ml air, lalu sampel dimasukan, kemudian kolom SPE dicuci dengan 10 ml metanol 5% kemudian kolom SPE tersebut dielusi dengan 6 ml metanol oksalat, setelah proses ekstraksi selsai, filtrat kemudian dipindahkan ke dalam cawan penangas sampai kering, kemudian setelah kering dilarutkan dengan 4 ml metanol dan 1 ml sampel di analisis dengan KCKT Agilent Technologies, 1220 infinity LC.

4.8. Uji Linieritas

Untuk uji linearitas, dibuat larutan baku campuran antibiotik tetrasiklin dengan konsentrasi 0,1 ppm; 0,3 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; 2 ppm ;3 ppm di lakukan dengan pengujian yang sama seperti kurva baku pada KCKT. Linieritas ditentukan dengan menggunakan metode regresi linear. Persamaan linearitas yang digunakan ialah $y = a + bx$, dengan a adalah titik potong dan b adalah kemiringan.

4.9. Penentuan Batas Konsentrasi Terendah

Penentuan batas deteksi LOD dan LOQ menggunakan prosedur yang sama dengan uji linieritas sehingga hasil linieritas yang diperoleh dapat untuk menentukan LOD dan LOQ dengan menggunakan rumus :

$$S_{y/x} = \frac{\sqrt{\sum (y - \hat{y})^2}}{n-2} \dots\dots\dots(1)$$

$$LOD = \frac{3 \times s_{y/x}}{b \text{ (slope)}} \dots\dots\dots(2)$$

$$LOQ = \frac{10 \times s_{y/x}}{b \text{ (slope)}} \dots\dots\dots(3)$$

Dimana :

SB = simpangan baku

LOD = batas deteksi

LOQ = batas kuantitasi

4.10. Uji Kesesuaian Sistem

Konsentrasi larutan baku yang telah dibuat sebelumnya disuntikkan sebanyak 7 kali ke dalam KCKT sebanyak 10 μ L. Dari hasil pengukuran simpangan baku.

4.11. Akurasi

Sampel hati ayam dalam bentuk larutan ditambah dengan larutan baku tetrasiklin dengan konsentrasi 0,3 ppm ; 0,5 ppm dan 1 ppm, selanjutnya disuntikkan ke KCKT penyuntikan diulang sebanyak 3 kali. Persen perolehan kembali dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{a-b}{c} \times 100 \% \dots\dots\dots(4)$$

Dimana :

A = konsentrasi sampel yang diperoleh setelah penambahan bahan baku

B = konsentrasi sampel sebelum penambahan bahan baku

C = konsentrasi baku yang ditambahkan

4.12 Presisi

Prosedur yang digunakan sama dengan akurasi Selanjutnya dilakukan prosedur penetapan kadar seperti yang telah disebutkan diatas. Dirumuskan dengan

$$\text{persamaan : } SD = \frac{\sqrt{\Sigma(x - x \text{ rata})^2}}{n-1} \dots\dots\dots(5)$$

$$RSD = \frac{SD}{x} \times 100 \% \dots\dots\dots(6)$$

Dimana :

RSD = Standar Deviasi Relatif (%)

SD = Standar deviasi

X = kadar rata-rata sampel

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1.Preparasi Sampel

Larutan standar dibuat dengan melarutkan standar tetrasiklin sebanyak 10 mg dalam metanol 100 ml dari larutan standar tersebut lalu dibuat larutan baku dengan konsentrasi 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 1 ; 2 ; 3 ppm, masing-masing larutan baku diinjeksikan ke HPLC lalu dibuat kurva baku kadar obat dengan luas area. Persamaan regresi linear yang didapat adalah $y = 5991957,221x + 845064,655$.

Pembuatan larutan trikloroasetat dimaksudkan untuk memecah ikatan protein dalam hati ayam yang memiliki senyawa kompleks untuk mendapatkan hasil yang baik pada saat proses ekstraksi sampel, untuk mempertahankan pH pada hati ayam agar tetap stabil dan senyawa tetrasiklin yang terkandung tidak rusak pada saat proses ekstraksi ditambahkan larutan buffer, metanol 5 % pelarut dengan daya elusi rendah untuk mengelusi kolom SPE pada saat sampel dimasukkan untuk melarutkan senyawa pengotor yang bersifat polar agar ekstraksi yang dihasilkan bersih dari senyawa senyawa pengotor, dan metanol oksalat mengelusi kolom SPE setelah metanol 5 % untuk melarutkan tetrasiklin yang terjerap dalam kolom SPE agar larut dan tersaring kemudian dianalisa di HPLC.

5.2. Pengujian Sampel

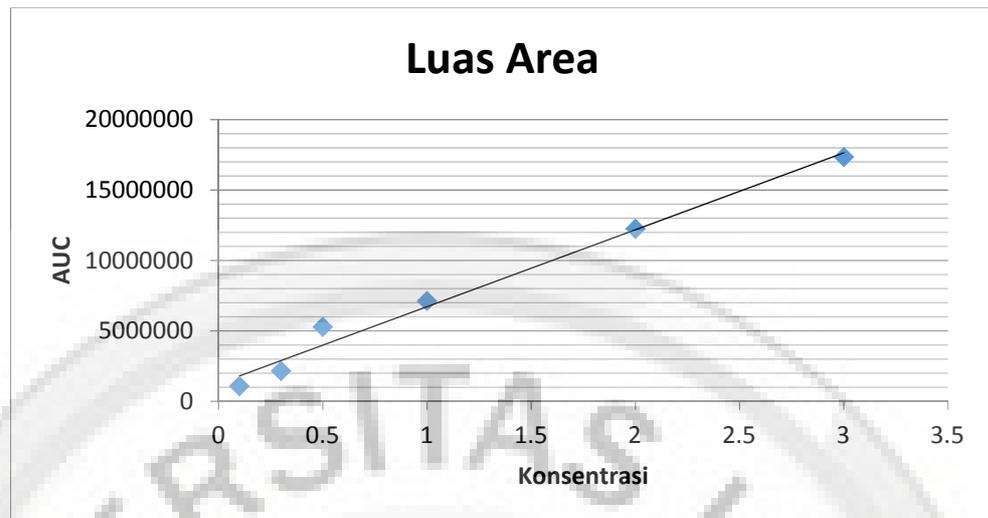
Pada penelitian ini pertama-tama sampel hati ayam dilakukan penggilingan terlebih dahulu sampai halus menggunakan blender sebelum dilakukan preparasi sampel. Dari masing-masing sampel ditimbang sebanyak 5 g dan ditempatkan di gelas kimia kemudian ditambahkan 2 ml asam trikloroasetat yang penggunaannya untuk memecah ikatan protein yang terkandung dalam sampel agar mempermudah proses ekstraksi sampel, lalu sampel diaduk dan ditambahkan 18 ml larutan buffer Mcillvaine sebagai larutan penyangga yang nantinya akan menahan senyawa tetrasiklin yang akan diekstraksi tetap stabil, kemudian sampel ditempatkan di dalam tabung sentrifuga untuk memisahkan larutan supernatan dengan residunya dimana larutan supernatan yang terpisah nanti akan dimasukkan kedalam kolom SPE, dimana Prinsip dari SPE yaitu analit terperangkap (*dead stopped*) pada medium SPE dengan cara memasukannya pada selongsong di dalam suatu pelarut yang memiliki daya mengelusi rendah, analit tersebut kemudian dapat dibilas dengan pelarut lain yang berdaya elusi rendah kemudian akhirnya dielusi dengan pelarut kuat bervolume kecil. Ekstraksi Fase Padat bermanfaat untuk pemisahan selektif pengganggu-pengganggu dari analit, yang tidak mudah dicapai dengan ekstraksi cair-cair.

Setelah kolom SPE diaktifkan dahulu dengan 10 ml metanol dan 10 ml air kemudian sampel yang berupa larutan supernatan dimasukkan kedalam kolom SPE setelah larutan supernatan tersaring semua kemudian kolom SPE di cuci dengan 10 ml metanol 5 %, kemudian kolom SPE di elusi dengan 6 ml metanol oksalat setelah proses ekstraksi selesai lalu filtrat kemudian di tempatkan dicawan

penangas lalu dipanaskan pada suhu 60°C hal ini bertujuan untuk agar tetrasiklin yang terkandung didalamnya tidak rusak karena suhu terlalu panas. Pemanasan dilakukan sampai filtrat mengkristal kemudian dilarutkan dengan 4 ml metanol, dan sebanyak 1 ml sampel di analisa dengan KCKT Agilent Technologies, 1220 infinity LC dengan fase gerak metanol asam oksalat dan asetonitril dengan perbandingan 4 : 1.

5.3. Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk menjamin bahwa alat yang digunakan dapat menjamin sistem analisis beroperasi secara benar dengan persyaratan nilai % RSD tidak melebihi dari 2%. Pada percobaan ini hasil % RSD yang diperoleh adalah 0,504%. Hal ini menunjukkan bahwa sistem analisis telah beroperasi secara benar dan sesuai dengan yang disyaratkan.



Gambar. V.1. Kurva Kalibrasi Antara Standar Tetrasiklin dengan Luas Area (AUC)

5.4 Uji Linearitas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x), hasil pengukuran yang didapat dari data kurva kalibrasi persamaan $y = 5991957,221x + 845064,655$ dan r yang diperoleh 0,986 setelah dilakukan perhitungan di dapat $Sy/x = 11229$ dan $Vx0 = 16,29\%$ $Vx0$ yang dipersyaratkan $<2\%$ sehingga data yang diperoleh tidak sesuai dengan persyaratan.

5.5. 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 baku standar pada suatu sampel hasil data yang diperoleh sebagai berikut :

C (PPM)	(La sampel + Baku)	(La Sampel)	(La Spl + Bku) - (La Spl)	Kadar (x)	% Recovery
0.3	3618917	3812618	-193701	-0,173	-57,79
0.3	3607332	3812618	-205286	-0,175	-58,43
0.3	3592399	3812618	-220219	-0,178	-59,26
0.5	5240241	3812618	1427623	0,097	19,44
0.5	5242895	3812618	1430277	0,098	19,53
0.5	5249101	3812618	1436483	0,099	19,74
1	6160667	3812618	2348049	0,251	25,08
1	6378136	3812618	2565518	0,287	28,71
1	6320838	3812618	2508220	0,278	27,76

Tabel.V.2. Data Perhitungan Akurasi

Dari data tersebut dihitung persen perolehan kembali pada setiap konsentrasi dan hasil persen perolehan kembali yang didapat, dirata-ratakan untuk konsentrasi 0,3 ppm adalah -17,55 %, 0,5 ppm adalah 9,79 % dan 1 ppm adalah 27,18 %.

Akurasi perolehan kembali yang umum untuk senyawa dalam suatu campuran adalah kurang lebih 98-102% dan dari hasil yang diperoleh semua rata-rata persen perolehan kembali pada konsentrasi 0,3 ppm, 0,5 ppm dan 1 ppm tidak sesuai dengan yang dipersyaratkan. Rendahnya nilai % recovery terjadi karena metode preparasi sampel yang kurang baik sehingga diduga pengotor masih banyak terdapat dalam sampel.

5.6. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik, pada pengujian presisi diperoleh data sebagai berikut :

C (PPM)	Kadar (Xn)	(Xn- \bar{x})	(Xn- \bar{x}) ²
0,3	-0,173	0,002	0,000
0,3	-0,175	-0,175	0,031
0,3	-0,178	-0,178	0,032
RATA-RATA	-0,175	JUMLAH	0,062
		SD	0,177
		RSD (%)	-100,610
0,5	0,097	-0,001	0,000
0,5	0,098	0,098	0,010
0,5	0,099	0,099	0,010
RATA-RATA	0,098	JUMLAH	0,019
		SD	0,098
		RSD (%)	100.330
1	0,251	-0,021	0,000
1	0,287	0,287	0,082
1	0,278	0,278	0,077
RATA-RATA	0,272	JUMLAH	0,160
		SD	0,046
		RSD (%)	104.023

Tabel.V.3. Data Perhitungan Presisi

Pada pengujian dengan KCKT nilai RSD yang dipersyaratkan adalah >2%. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran sebanyak tiga kali pada konsentrasi 0,3 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm dengan hasil simpangan baku relatif yang diperoleh adalah -100,610 %, 100,330 %, 104,023 % , dari hasil terlihat tidak memenuhi persyaratan hal ini terjadi karena masih banyaknya pengotor yang terdapat pada sampel.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kadar tetrasiklin dalam hati ayam dapat dideteksi dengan kombinasi SPE dan KCKT dengan fase gerak metanol, asetonitril dan asam oksalat, hasil kadar tetrasiklin pada ketiga sampel terdeteksi tapi tidak terkuantifikasi pada sampel A didapatkan waktu retensi yaitu 2,300 kemudian pada saat ditambah baku standar menjadi 2,267 mendekati waktu retensi pada kurva baku 2,173 pada sampel A. pada sampel B waktu retensinya 2,270 juga mendekati pada waktu retensi kurva baku 2,173, dan sampel C 2,1777 juga mendekati dengan waktu retensi standar 2,173.

Dari ketiga sampel ini kemungkinan mengandung tetrasiklin tetapi tidak bisa ditetapkan berapa jumlah kadarnya karena pada sampel yang diekstraksi masih banyak pengotor yang belum terekstraksi secara sempurna. akurasi dan presisi pada pengujian ini tidak memenuhi syarat karena pada saat pemisahan masih banyak senyawa pengotor yang mengganggu pemisahan.

6.2. Saran

Disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kadar tetrasiklin dengan menggunakan metode preparasi yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrullah, I. K. 2004. *Nutrisi Ayam Petelur*. Lembaga Satu Gunung Budi, Bogor.
- Anastasia, Yessy. 2004. dalam : Teknisi Litkayasa Nonkelas pada Balai Besar Penelitian Veteriner. *B6u8letin Teknik Pertanian* Vol. 16, No. 2, 2011: 68-73.
- Brady, Ms. Dan Katz.S.E. 1992. *Analisis Of Antibiotik Drud Residu in Food Product Of animals Origin*, Edited By V.K. Agarwal, 5-7. Plenum Press New York.
- Chopra, I and Robert, M. 2001. *Tetracycline Antibiotics : Mode of action, application, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance, microbiology and molecular biology reviews*. June. Vol. 65 No. 62 235-260.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Jakarta, 7.
- Doull's, C.1996. *Toxicology The Basic Science of Poisons*.Curtis D.Klaassen (Ed). Fifth Edition Health Profesion Division.Mc. Graw-Hill. New York.
- Frandsen, R. D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi ke-4*. Terjemahan : Srigando, B. & K. Praseno. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Golib, Ibnu dan Rahman Abdul. *Kimia Farmasi Analisis*. Jakarta: Pustaka Pelajar, 2011.
- Katzung. BG. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 10*, Jakarta: EGC 2010
- Klasing, K. C. 1999. *Comparative Avian Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, U. K.
- Mayer, J.L,NH. Booth, and L.E. Mc Donals. 1997. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics Fourth Edition*. Oxforddan IBH pulb.Co.New Delhi Bombay Calcuta.
- Murdiati, T.B. 1997. *Pemakaian antibiotik dalam usaha perternakan*. *Wartazoa* 6 : 18 – 21.
- Mutschler,Ernst. *Dinamika Obat edisi 5*. Bandung. ITB, 2006.
- Resnawati, H.2005. *preferensi Konsumen terhadap daging dada ayam pedaging yang diberi ransum menggunakan tepung cacing tanah (lumbiricus rubellus)*.

Seminar Nasional Teknologi Perternakan dan Veteriner. Balai Penelitian Ternak. Bogor. Hal. 744-748.

Setiabudy. Rianto. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*, Jakarta : Badan Penerbit FKUI 2011.

Sinaga, S.M.2004. *Perspektif pengawasan makanan dalam kerangka keamanan makanan dan untuk meningkatkan kesehatan*. [Http:// digilib. Usu.ac.id/ artikel/sinaga.pdf](http://digilib.usu.ac.id/artikel/sinaga.pdf).

SNI 2001. *Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Batas Maksimum Residu dalam Bahan Makanan Asal Hewan*. Dewan standarisasi nasional, Jakarta.

UU. Lendhanie. (2002). *Penurunan Residu Tetrasiklin Oksitetrasiklin dan Klortetrasiklin Oleh Pemanasan dan pH Larutan Pada Daging Dada Ayam Broiler*. Institut Pertanian Bogor. Bogor

Voigt, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. (Terjemahan S.Noerono). Gajah Mada Universitas Press, Yogyakarta, 442-456.

Watson. G David, *Analisis Farmasi Edisi 2*. Jakarta : EGC 2009.

Yuningsih. 2004. *Keberadaan residu antibiotika dalam produk peternakan (susu dan daging)*. Di Dalam: Lokakarya Nasional Keamanan Pangan Produk Peternakan. Bogor: Balai Penelitian Veteriner. Hlm 48-55.



LAMPIRAN 1
UJI KESESUAIAN SISTEM

KE	LUAS AREA	WAKTU RETENSI
1	26765585	2173
2	26418995	2170
3	26421298	2173
4	26375156	2173
5	26394450	2173
6	26462649	2173
7	26461667	2170
X	26471400	2172,142857
SD	133639,334	1,463850109
RSD (%)	0,50484423	0,067391981

Tabel.L.I. Perhitungan Uji Kesesuaian Sistem dan Waktu Retensi

LAMPIRAN 2
PERHITUNGAN KOEFISIEN VARIANSI

C	Luas Area	\hat{y}	$(y - \hat{y})$	$(y - \hat{y})^2$
0.1	1078007	14442603,87	-36625338,71	1341415435,62
0.3	2155508	26426518,31	-48714383,13	2373091123,74
0.5	5280343	38410432,76	14392997,25	20715836969,46
1	7115988	68370218,86	2789661,14	778220927,60
2	12245895	12828979,11	-5830841,07	3399870758,36
3	17343462	18820936,33	-14774743,28	21829303898,99
1.15			Jumlah	50437739113,77
			Rata-rata	8406289852,29
			Sy/x	11229173,96
			SX0	0,187404108
			VX0	16,29600936

Tabel.L.II. Perhitungan Koefisien Variansi

Persamaan regresi linear

$$y = bx + a$$

$$y = 5991957.221x + 845064.655$$

$$r^2 = 0.9867$$

$$\Sigma(y - \hat{y}) = 5043773911377$$

$$S_{y/x} = \frac{\sqrt{\Sigma(y - \hat{y})^2}}{n-2} = \frac{\sqrt{5043773911377}}{4} = 1122917,396$$

$$S_{x_0} = \frac{S_y}{b} = x = \frac{1122917,396}{5991957,221} = 0.187404 \quad V_{x_0} = \frac{0,187404}{1,15} \times 100 \% = 16,29 \%$$

$$LOD = 3 \times \frac{1122917,396}{25991957,221} = 0,562 \text{ ppm}$$

$$LOQ = 10 \times x = \frac{1122917,396}{25991957,221} = 1,874 \text{ ppm}$$

LAMPIRAN 3
PERHITUNGAN AKURASI

C (PPM)	(La sampel + Baku)	(La Sampel)	(La Spl + Bku) - (La Spl)	Kadar (x)	% Recovery
0.3	3618917	3812618	-193701	-0,173	-57,79
0.3	3607332	3812618	-205286	-0,175	-58,43
0.3	3592399	3812618	-220219	-0,178	-59,26
0.5	5240241	3812618	1427623	0,097	19,44
0.5	5242895	3812618	1430277	0,098	19,53
0.5	5249101	3812618	1436483	0,099	19,74
1	6160667	3812618	2348049	0,251	25,08
1	6378136	3812618	2565518	0,287	28,71
1	6320838	3812618	2508220	0,278	27,76

Tabel.L.III. Perhitungan Akurasi

Nilai rata-rata persen perolehan kembali pada konsentrasi 0,3 ppm adalah -17,55 %
konsentrasi 0,5 ppm adalah 9,79 % dan konsentrasi 1 ppm adalah 27,18 %.

(LA sampel+baku) – (LA sampel)

$$3618917 - 3812618 = - 0,173$$

Perolehan kembali

$$\% Recovery = \frac{Ch \times 100\%}{Cs}$$

Dimana :

Ch = kadar analit yang dihitung

Cs = kadar analit teoritis

$$\% Recovery = \frac{0,173 \times 100\%}{0,3\text{ppm}} = -57,79 \%$$

LAMPIRAN 4
PERHITUNGAN PRESISI

C (PPM)	Kadar (Xn)	(Xn-\bar{x})	(Xn-\bar{x})²
0,3	-0,173	0,002	0,000
0,3	-0,175	-0,175	0,031
0,3	-0,178	-0,178	0,032
RATA-RATA	-0,175	JUMLAH	0,062
		SD	0,177
		RSD (%)	-100,610
0,5	0,097	-0,001	0,000
0,5	0,098	0,098	0,010
0,5	0,099	0,099	0,010
RATA-RATA	0,098	JUMLAH	0,019
		SD	0,098
		RSD (%)	100,330
1	0,251	-0,021	0,000
1	0,287	0,287	0,082
1	0,278	0,278	0,077
RATA-RATA	0,272	JUMLAH	0,160
		SD	0,046
		RSD (%)	104,023

Tabel.L.IV. Perhitungan Presisi

Perhitungan

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (xi-x)^2}{n-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{0,062}{3-1}} = 0,177$$

$$RSD \% = \frac{SD}{x \text{ rata-rata}} \times 100 \%$$

$$RSD \% = \frac{0,177}{-0,175} \times 100 \% = 100,330 \%$$

LAMPIRAN 5**KURVA KALIBRASI DAN LUAS AREA**

C	LUAS AREA
0,1	1078007
0,3	2155508
0,5	5280434
1	7115988
2	12245895
3	17343462
4	26008577

Tabel.L.V. Kurva Kalibrasi

LAMPIRAN 6

PERHITUNGAN KADAR

Sampel	Luas Area
A	3812618
B	6392830
C	1090114

Tabel.L.VI.Perhitungan Kadar

Perhitungan Kadar :

$$Y = bx + a$$

$$3812618 = 5991957,221x + 845064,655$$

$$= 3812618 - 845064,655 = 5991957,221$$

$$X = 0,495 \text{ ppm}$$

$$6392830 = 5991957,221x + 845064,655$$

$$= 6392830 - 845064,655 = 5991957,221$$

$$X = 0,925 \text{ ppm}$$

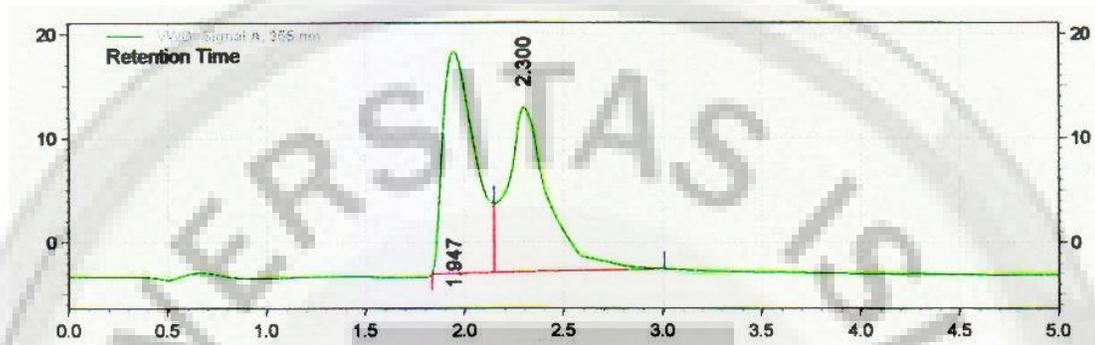
$$1090114 = 5991957,221x + 845064,655$$

$$= 1090114 - 845064,655 = 5991957,221$$

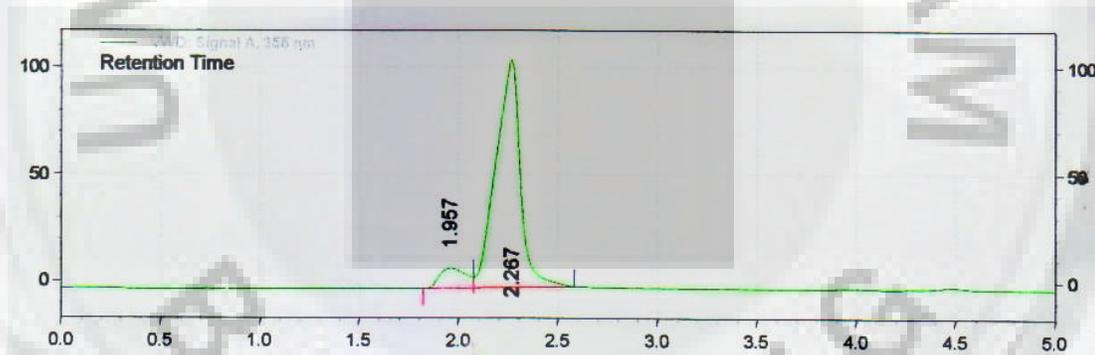
$$X = 0,040 \text{ ppm}$$

LAMPIRAN 7

KROMATOGRAM SAMPEL A

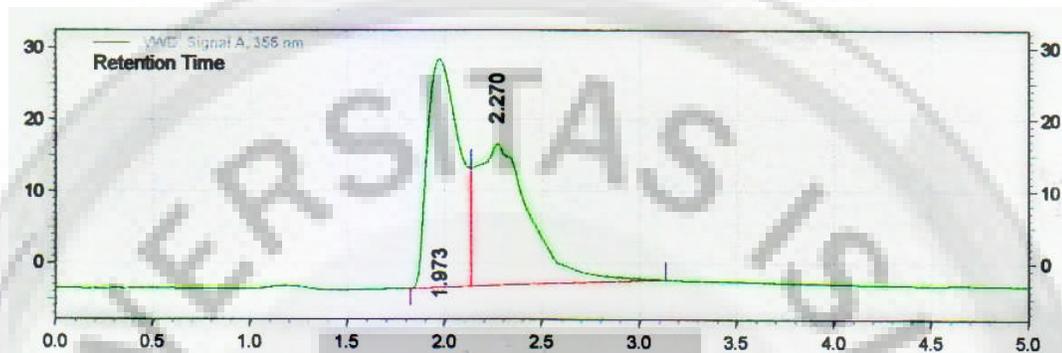


Gambar.L.VII.1.Sampel A

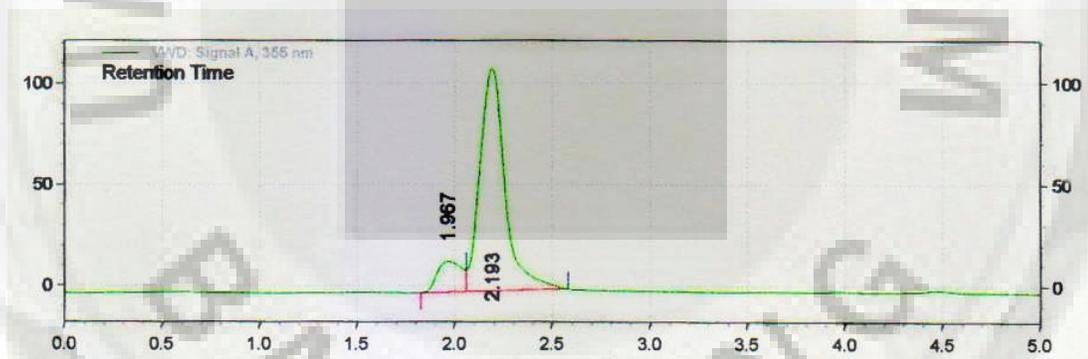


Gambar.L.VII.2.Sampel A + Standar

LAMPIRAN 8
KROMATOGRAM SAMPEL B

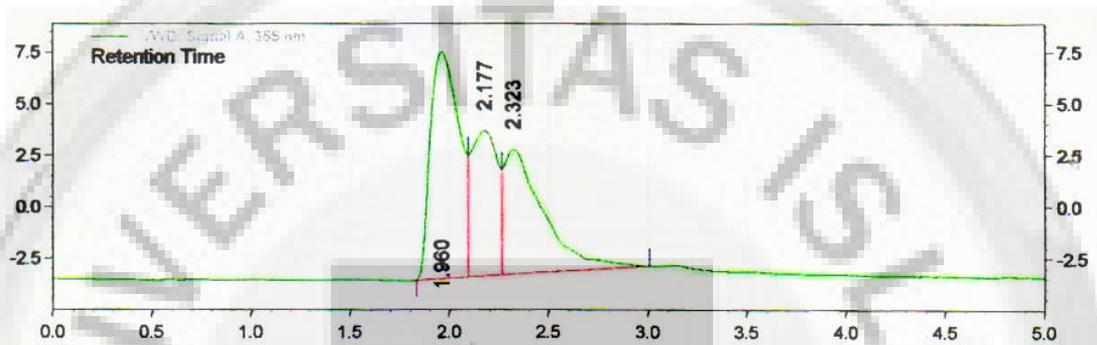


Gambar.L.VIII.1.Sampel B

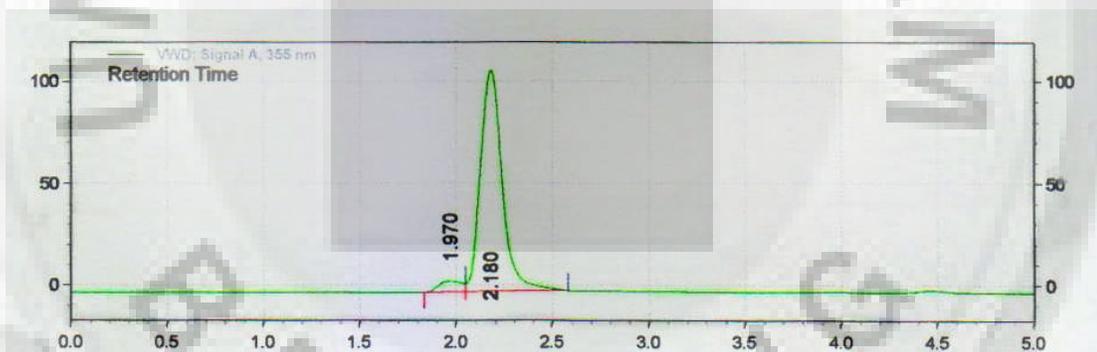


Gambar.L.VIII.2.Sampel + Standar

LAMPIRAN 9
KROMATOGRAM SAMPEL C

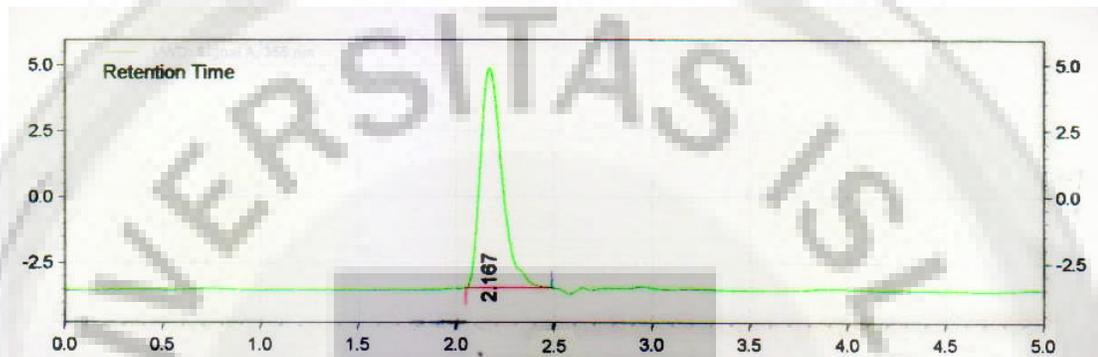


Gambar.L.IX.1.Sampel C

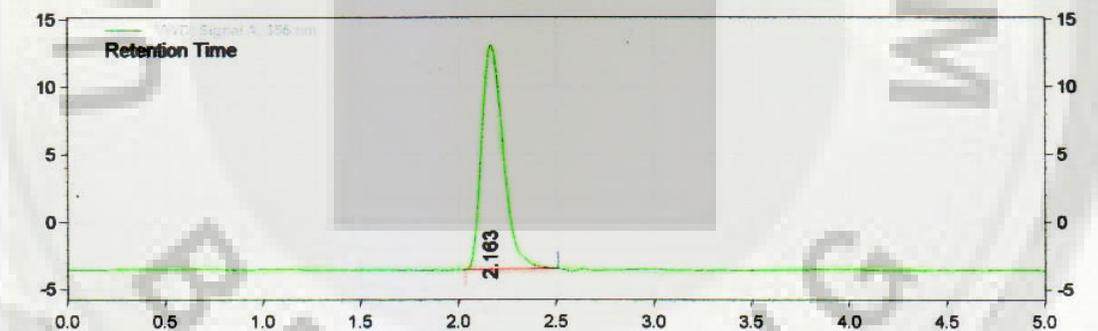


Gambar.L.IX.2.Sampel C + Standar

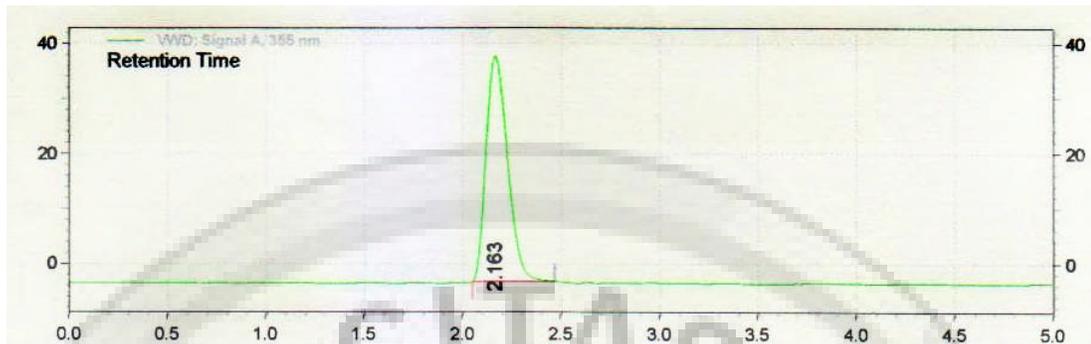
LAMPIRAN 10
KROMATOGRAM BAKU STANDAR



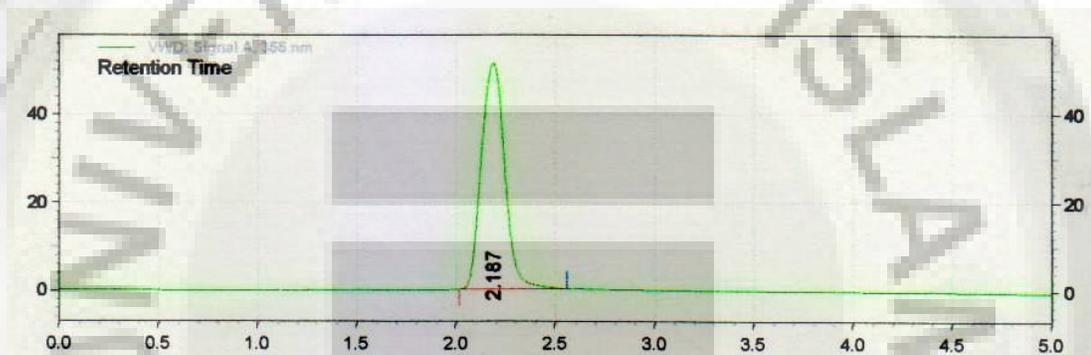
Gambar.L.X.1.Standar 0,1 ppm



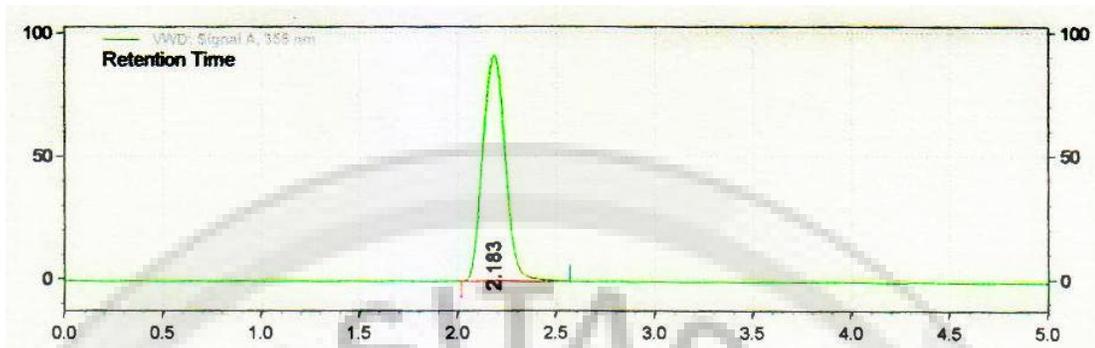
Gambar.L.X.2.Standar 0,3 ppm



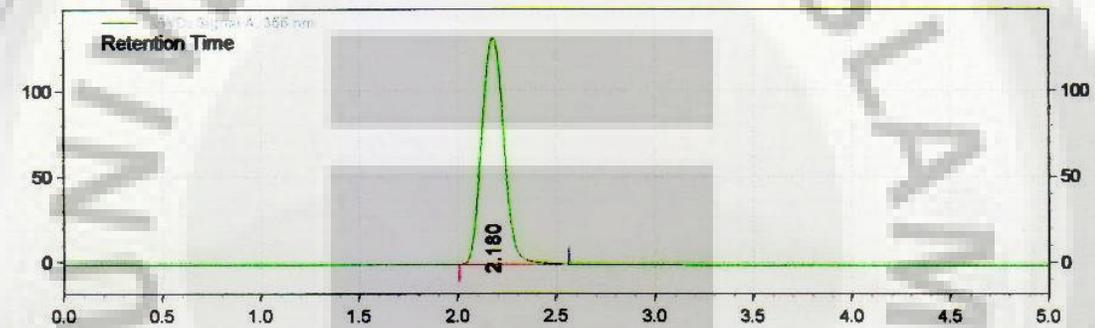
Gambar.L.X.3.Standar 0,5 ppm



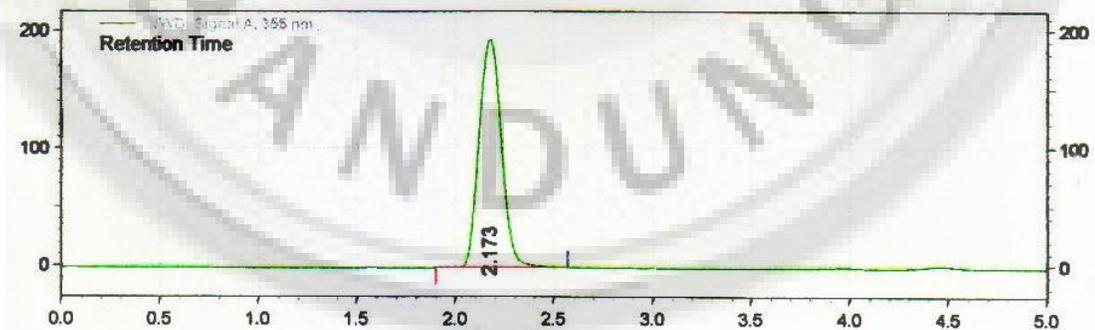
Gambar.L.X.4.Standar 1 ppm



Gambar.L.X.5.Standar 2 ppm



Gambar.L.X.6.Standar 3 ppm



Gambar.L.X.7.Standar 4 ppm