

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Madu

Madu adalah cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra floral nektar) atau ekskresi serangga (SNI 01-3545-2004, 2004).

Penggunaan madu dalam sejarah pengobatan tradisional telah dikenal sejak dahulu. Orang-orang Mesir zaman Fir'aun memanfaatkan madu untuk menyembuhkan luka bakar dan mengobati beragam penyakit (Winarno, 1982). Penggunaan madu menyebar luas diseluruh dunia. Madu banyak digunakan sebagai makanan, bumbu dalam masakan, bahan dalam produk obar, produk-produk fermentasi, juga dalam industri kosmetik (Krell, 1996).

1.1.1 Karakteristik Madu

1. Kekentalan (Viskositas)

Madu berbentuk cairan kental. Kekentalan madu bergantung pada kandungan air pada madu dan suhu udara. Madu yang memiliki kandungan air yang tinggi akan lebih cair dibandingkan dengan yang memiliki kandungan air yang rendah. Suhu udara merupakan hal yang paling memengaruhi viskositas madu. Madu dalam suhu udara yang tinggi akan lebih cair dibanding dengan madu dalam suhu udara yang

rendah. Dalam suhu ruangan normal (20° C) madu cenderung kental (Malisan dan Maltini, 1999).

2. Warna madu

Zat penyebab warna madu sebagian besar belum diketahui, namun ada yang menduga terdiri dari fraksi yang larut air dan larut lemak. Pada madu yang berwarna cerah, zat warna larut air lebih sedikit dari zat yang larut lemak. Ada juga yang menduga oleh berbagai senyawa folifenol, terutama pada madu berwarna pekat. Oksidasi yang berlangsung atas zat-zat ini akan semakin menimbulkan warna. Warna yang timbul pada madu yang tersimpan lama disebabkan oleh kombinasi beberapa faktor, misalnya gabungan tannat dan polifenol lain dengan zat besi dari kemasan atau alat pengolahan, reaksi dari gula tereduksi dengan senyawa mengandung nitrogen amino (asam amino, polipeptida, protein) dan ketidakstabilan fruktosa dalam larutan asam. Madu cerah hampir tak mengandung tirosin dan triptofan, sedang pada madu berwarna pekat hal sebaliknya yang terdapat. (Sihombing, 1994).

3. Aroma madu

Aroma pada madu diukur menggunakan gas liquid chromatography dengan mengukur senyawa asam-asam yang mudah menguap yang terdapat dalam madu. Senyawa pembentuk aroma madu, antara lain formaldehida, asetaldehida, aseton, isobutiraldehida dan diatesil. Contoh aroma madu yang berasal dari nektarnya yang mencolok adalah dari

nektar jeruk citrun yang mengandung methyl anthranilate (Sihombing, 1994) .

4. Rasa madu

Madu memiliki rasa yang bervariasi yang dipengaruhi oleh glukosida dan alkaloid yang khas dari tumbuhan sumber nektar (Maeda et al, 1962).

1.1.2 Komposisi Madu

Zat-zat yang terkandung dalam madu sangatlah kompleks dan kini telah diketahui tidak kurang 181 macam zat yang terkandung dalam madu. Karbohidrat merupakan jumlah komponen terbesar yang terkandung dalam madu, yaitu lebih dari 75%. Jenis karbohidrat yang paling dominan hamper semua madu adalah dari golongan monosakarida yang terdiri dari fruktosa dan dekstrosa yang mencakup 85%-90% dari total karbohidrat yang terdapat dalam madu. Sisanya terdiri dari disakarida dan oligosakarida (Sihombing, 1997)

Komposisi kedua setelah karbohidrat adalah air. Jumlahnya dari 15%-25%. Beragamnya kadar air dalam madu disebabkan oleh beberapa hal diantaranya kelembapan udara, jenis nektar, proses produksi dan penyimpanan (Suranto, 2007).

1.1.3 Manfaat Madu

Secara umum madu berkhasiat untuk menghasilkan energi, meningkatkan daya tahan tubuh, dan meningkatkan stamina. Banyak penyakit yang dapat disembuhkan dengan madu diantaranya penyakit lambung, radang usus, jantung, dan hipertensi.

Madu juga mengandung zat antibakteri sehingga baik untuk mengobati luka luar dan penyakit infeksi (Suranto, 2004). Madu mengandung senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan berfungsi dalam menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif pada protein dan lemak. Antioksidan dapat mencegah terjadinya karsinogenesis dan mutagenesis (Abdul et al, 2008).

1.2 Antibiotika

Antibiotika merupakan substansi yang dihasilkan oleh suatu organisme dan dapat menghambat pertumbuhan organisme lain. Antibiotika juga dimanfaatkan untuk bertahan hidup dan menghadapi organisme lain yang mengancam keberadaannya. Antibiotika ini menunjukkan aktivitas toksisitas selektif dan mungkin berbeda pada tiap organisme. Sebagian besar antibiotika yang digunakan dalam beberapa dekade terakhir murni berasal dari mikroba (Pathania & Brown, 2008).

Ada bermacam-macam antibiotika yang berpotensi untuk terapi penyakit infeksi. Mereka berbeda satu sama lain dalam beberapa hal, seperti sifat fisika, kimia, farmakologis, spektrum antibakteri atau mekanisme kegiatannya. Berdasarkan toksisitasnya, antibiotika dibagi dalam 2 kelompok, yaitu antibiotika dengan aktivitas bakteriostatik bersifat menghambat pertumbuhan mikroba dan aktivitas bakterisida bersifat membinasakan mikroba lain. Antibiotika tertentu aktivitasnya dapat ditingkatkan dan bakteriostatik menjadi bakterisida bila konsentrasinya ditingkatkan. (Suwandi, 1992).

Banyak antibiotika yang sudah ditemukan dan digunakan sebagai terapi utama pengobatan infeksi yang disebabkan mikroba (Pelaez, 2006). Penyakit infeksi demikian berbahaya dan dapat menimbulkan kematian. Sebagian contoh penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae* dapat membunuh 1,5 juta orang per tahunnya (Fernández-Tornero et al, 2005).

1.2.1 Sumber dan Jenis-Jenis Antibiotika

Pada dasarnya antibiotika dibedakan menjadi 2 (dua), yaitu antibiotika alamiah dan antibiotika sintetis. Antibiotika alamiah merupakan antibiotika yang telah tersedia secara alamiah yang merupakan hasil metabolisme sekunder dari mikroorganisme tertentu. Antibiotika alamiah terdiri dari; Penisilin (*Penicilium nonatum*), Sefalosporin (*Chephalosporium acremonium*), Streptomisin (*Streptomyces grizeus*), Tetrasiklin (*Streptomyces*), Erythromisin (*Streptomyces erythreus*), Klorampenikol (*Streptomyces venezuelae*), Polimiksin (*Bacillus polimixa*), Basitrasin (*Bacillus subtilis*). Sedangkan antibiotika sintetis merupakan antibiotika yang secara keseluruhan disintetis atau dibuat di laboratorium dan merupakan zat kimia yang berfungsi untuk membunuh mikrobia. Yang termasuk dalam antibiotika ini yaitu: Sulfanomide, Nitrofurantoin, Hidrazide asam isonicotinamide (INH/Isoniazid) dan Nilidiksat (Murray, 1995).

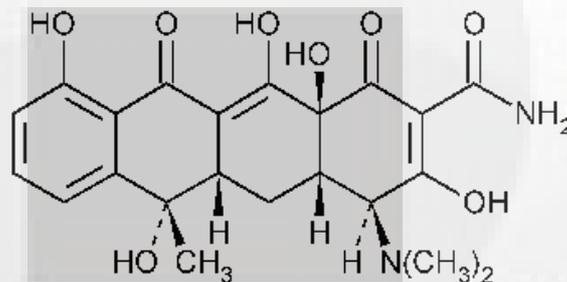
1.2.2 Tetrasiklin

Tetrasiklin ialah antibiotik yang umum digunakan sebagai obat-obatan veteriner dan diisolasi dari bakteri *Streptomyces* sp.. penggunaan tetrasiklin sebagai obat-obatan veteriner umumnya dicampurkan ke dalam pakan. Tetrasiklin merupakan antibiotik yang bersifat bakteriostatik dan bekerja dengan jalan

menghambat sintesis protein kuman. Tetrasiklin memiliki spektrum yang luas, artinya antibiotik ini memiliki kemampuan melawan sejumlah bakteri patogen (Yuningsih, 2004, hlm.48).

Menurut farmakope Indonesia Edisi 4, Tetrasiklin memiliki pemerian 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 alkali hidroksida.

Tetrasiklin mempunyai kelarutan sangat sukar larut dalam air, larut dalam 50 bagian etanol (95%) P, praktis tidak larut dalam kloroform P, dan dalam eter P. Larut dalam asam encer, larut dalam alkali disertai peruraian.



Gambar 1.1 Struktur Tetrasiklin

1.2.3 Penggunaan Antibiotika Dalam Lebah Madu

Antibiotika digunakan untuk hewan sebagaimana digunakan pada manusia yaitu untuk mencegah dan mengobati infeksi. Manfaat pengobatan dengan antibiotika antara lain membasmi agen penyakit (Butaye et al, 2003), menyelamatkan hewan dari kematian, mengembalikan kondisi hewan untuk memproduksi kembali dalam waktu yang relatif singkat, mengurangi atau menghilangkan penderitaan hewan dan mencegah penyebaran mikroorganisme ke

alam sekitarnya yang dapat mengancam kesehatan hewan dan manusia (Adam, 2002)

Beberapa antibiotika yang banyak dipakai sebagai perangsang pertumbuhan antara lain dari golongan tetrasiklin, penisilin, makrolida, dan lincomisin. Pengaruh pemberian antibiotik yang menguntungkan disebabkan oleh adanya faktor pengendali infeksi subklinis. Antibiotik juga mampu meningkatkan digesti pati dengan jalan menekan aktivitas mikroba yang bertanggung jawab terhadap produksi gas di lambung (Soeparno, 1998).

1.2.4 Residu Antibiotika

Residu obat atau bahan kimia adalah akumulasi obat atau bahan kimia dan atau metabolitnya dalam jaringan atau organ hewan setelah pemakaian obat atau bahan kimia untuk tujuan pencegahan/pengobatan atau sebagai imbuhan pakan untuk pemacu pertumbuhan. Residu antibiotik dalam makanan asal hewan erat kaitannya dengan penggunaan antibiotik untuk pencegahan dan pengobatan penyakit serta penggunaannya sebagai imbuhan pakan. Sebagai imbuhan pakan, antibiotika dapat memacu pertumbuhan ternak agar dapat tumbuh lebih besar dan lebih cepat serta dapat mencegah terjadinya infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik yang berlebihan serta tidak dipatuhinya waktu henti obat menyebabkan timbulnya residu di dalam daging ternak, telur, susu atau produk ternak lainnya. Waktu henti adalah kurun waktu dari saat pemberian obat terakhir hingga ternak boleh dipotong atau produknya dapat dikonsumsi (Bahri, 2008).

Antibiotik pada ternak juga diberikan dalam bentuk suntikan. Apabila hewan ternak yang baru saja mendapatkan suntikan antibiotik atau ransum

tersebut segera dipotong, dapat meninggalkan residu obat-obatan di dalam daging ternak, telur, susu atau produk ternak lainnya (Rico, 1986).

1.2.5 Efek Samping Residu Antibiotika

Efek samping residu antibiotika pada manusia adalah reaksi alergi, toksisitas, gangguan pencernaan, dan resistensi terhadap mikroorganisme yang menyebabkan mikroorganisme yang menyebabkan penyakit akan kebal terhadap antibiotika, sehingga tidak dapat dikontrol oleh antibiotika lain (Anthony, 1997).

1.3 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murni dan mengetahui kuantitasnya yang menggunakan kromatografi juga merupakan analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik menyerap maupun merupakan cuplikan KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofilik seperti lipid-lipid dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. KLT juga dapat digunakan untuk mencari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Bahan lapis tipis seperti silika gel adalah senyawa yang tidak bereaksi dengan pereaksi-pereaksi yang lebih reaktif seperti asam sulfat. (Fessenden, 2003)

Kromatografi lapis tipis (KLT) seperti halnya kromatografi kertas, murah dan mudah dilakukan. Kromatografi ini mempunyai satu keunggulan dari segi kecepatan dan kromatografi kertas. Kromatografi lapis tipis membutuhkan hanya setengah jam saja, sedangkan pemisahan yang umum pada kertas membutuhkan waktu beberapa jam. KLT sangat terkenal dan rutin digunakan di berbagai

laboratorium. Media pemisahannya adalah lapisan dengan ketebalan sekitar 0,1-0,3 mm zat padat adsorben pada lempeng kaca, plastic dan aluminium. Lempeng yang paling umum digunakan yang berukuran 8x2 inchi. Dan zat padat yang digunakan adalah alumina, KLT kadang-kadang disebut dengan kromatografi planar. Tidak ada cara yang mudah dalam mengelusi komponen sampel dari lempengan (kertas) untuk melintasi sebuah detektor tetapi telah dikembangkan peralatan untuk mengamati lempengan dengan sifat-sifat sampel seperti itu adsorpsi sinar UV dan pendedaran.(Undewood. 2002 : 551)

Pertimbangan untuk pemilihan pelarut pengembang (aluen) umumnya sama dengan pemilihan eluen untuk kromatografi kolom. Dalam kromatografi adsorpsi, pengelusi eluen naik sejalan dengan pelarut (misalnya dari heksana ke aseton, ke alkohol, ke air). Eluen pengembang dapat berupa pelarut tunggal dan campuran pelarut dengan susunan tertentu. Pelarut-pelarut pengembang harus mempunyai kemurnian yang tinggi. Terdapatnya sejumlah air atau zat pengotor lainnya dapat menghasilkan kromatogram yang tidak diharapkan.

KLT merupakan contoh dari kromatografi adsorpsi. Fase diam berupa padatan dan fase geraknya dapat berupa cairan dan gas. Zat terlarut yang diadsorpsi oleh permukaan partikel padat. Kromatografi adsorpsi memiliki beberapa kekurangan, yaitu : a. pemilihan fase diam(adsorben), b. koefisien distribusi untuk seringkali tergantung pada kadar total, sehingga pemisahannya kurang sempurna. (Soebagio,dkk. 2002 : 58-88)

1.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sangat sensitif dan beragam sehingga mampu menganalisis berbagai cuplikan secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran (Ditjen POM, 1995).

KCKT merupakan metode yang sering digunakan untuk menganalisis senyawa obat. KCKT dapat digunakan untuk pemeriksaan kemurnian bahan obat, pengawasan proses sintesis dan pengawasan mutu (*quality control*) (Ahuja and Dong, 2005). Populernya penggunaan KCKT disebabkan teknik ini memiliki beberapa keunggulan, yaitu mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, kecepatan analisis, kepekaan yang tinggi dan resolusi yang baik. Selain itu, kolom dapat digunakan kembali, dapat menggunakan bermacam-macam detektor, dan dapat menghindari terjadinya dekomposisi atau kerusakan bahan yang dianalisis (Adnan 1997).

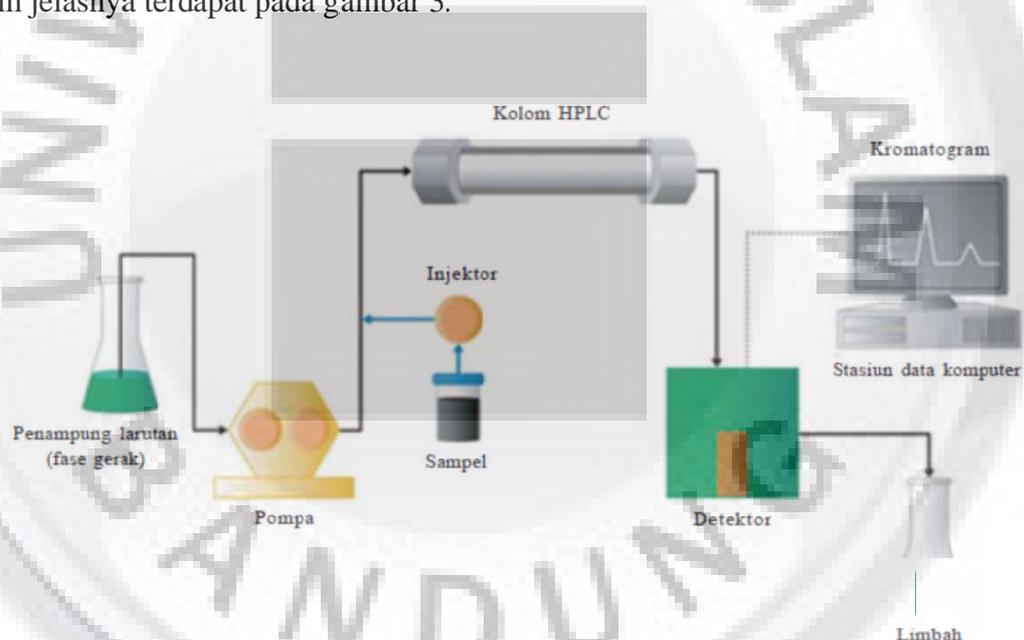
1.4.1 Cara Kerja Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi adalah suatu istilah umum untuk berbagai teknik pemisahan yang didasarkan atas partisi sampel di antara suatu fasa gerak, yang bisa berupa gas ataupun cair, dan fasa diam yang bisa berupa cairan ataupun padatan (Putra, 2004). Sampel dibawa oleh *carrier* atau disebut fase gerak (*mobile phase*) yang

berfungsi memisahkan komponen sampel. Hampir setiap senyawa kimia, baik yang memiliki bobot molekul rendah maupun tinggi, dapat dipisahkan komponennya dengan metode kromatografi.

1.4.2 Instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi terdiri atas 6 bagian, yaitu wadah fase gerak (*reservoir*), pompa (*pump*), tempat injeksi sampel (*injector*), kolom (*column*), wadah buangan fase gerak, detektor (*detector*) dan perekam (*recorder*) seperti komputer, integrator dan rekorder (McMaster, 2007). Untuk lebih jelasnya terdapat pada gambar 3.



Gambar 1.2 Ilustrasi Skematik KCKT (Balitvet, 2011)

1.5 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan penilaian terhadap suatu parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan

bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan penggunaannya (Harmita, 2004:117). Unsur-unsur validasi metode analisis yaitu, akurasi, presisi, dan linieritas.

1.5.1 Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Akurasi hasil analisis sangat bergantung kepada sebaran galat sistematik di dalam keseluruhan tahapan analisis. Oleh karena itu untuk mencapai akurasi yang tinggi hanya dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematik tersebut seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaan yang cermat, taat asas, dan sesuai prosedur (Harmita, 2004:117).

1.5.2 Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata, jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004:121). Presisi dibagi menjadi tiga, yaitu keterulangan (*repeatability*), ketertiruan (*reproducibility*), dan presisi antara (*intermediate precision*). Keterulangan ialah presisi metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Ketertiruan ialah presisi metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang berbeda pada kondisi berbeda. Presisi antara merupakan ukuran ketertiruan pada kondisi operasi normal antara laboratorium dan antaranalisis. (CDER, 2004).

1.5.3 Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas dapat diukur dengan pengukuran-pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda (Gandjar dan Rohman, 2007:469).

