

ANALISIS RESIDU KLORAMFENIKOL PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) MENGGUNAKAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)

Surya Adi Saputra^{1*}, Febrina Arfi¹

¹ Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry

* E-mail : suryaadirv@gmail.com

Abstract: *This study aims to analyze the residual chloramphenicol in tiger shrimp (penaeus monodon) using high performance liquid chromatography (hplc). This study produced chloramphenicol residues in tiger shrimp samples (Penaus monodon) which were analyzed using HPLC. Chloramphenicol residual levels in tiger shrimp (Penaus monodon) from the Port of Ocean Fisheries (PPS) Kutaradja amounted to 0.0024634 ppm. It can be said that tiger prawns from PPS Kutaradja are still safe for consumption because they do not pass the BMR set by SNI 01-6366-2000 which is 0.01 ppm.*

Keywords: *HPLC, kloramfenikol, tiger shrimp, Residu.*

Abstrak: Kloramfenil masih banyak digunakan pada hewan, khususnya pada Udang Windu. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis residu kloramfenikol pada udang windu (*penaeus monodon*) menggunakan *high performance liquid chromatography* (HPLC). Penelitian ini menghasilkan Residu kloramfenikol pada sampel udang windu (*Penaus monodon*). Kadar residu kloramfenikol pada udang windu (*Penaus monodon*) dari Pelabuhan Perikanan Samudera (PPS) Kutaradja adalah sebesar 0,0024634 ppm. Dapat dikatakan bahwa udang windu dari PPS kutaradja masih aman untuk dikonsumsi karena tidak melewati BMR yang telah ditetapkan oleh SNI 01-6366-2000 yaitu sebesar 0,01 ppm.

Kata Kunci: HPLC, kloramfenikol, udang windu, Residu.

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik tidak terbatas hanya ditujukan untuk terapi pada manusia, namun digunakan pula untuk pengobatan pada hewan khususnya hewan ternak. Antibiotik yang sering diberikan pada hewan antara lain kloramfenikol, oksitetrasiklin, penisilin, doksisisiklin, eritromisin, streptomisin dan norfloxasin. Antibiotik untuk tujuan terapi

diberikan hanya saat hewan mengalami penyakit infeksi akibat terpapar bakteri tertentu. Penggunaan antibiotik pada hewan ternak seperti ikan atau udang hanya direkomendasikan untuk pengobatan induk ikan atau induk udang saja dan harus diberikan dalam dosis yang tepat untuk mencegah timbulnya resistensi terhadap bakteri penyebab penyakit pada ikan atau udang (Wibowo dkk, 2010)

Namun kenyataannya antibiotik juga digunakan untuk tujuan nonterapi, yaitu sebagai pemacu pertumbuhan hewan ternak dengan cara menambahkan antibiotik pada pakan buatan (Wardana, 2011). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat berpotensi menyebabkan residu dalam jaringan organ ternak hewan. Hal ini tentu cukup berbahaya bagi kesehatan manusia yang mengkonsumsinya, karena dapat menimbulkan reaksi alergi, keracunan bahkan resistensi jika dikonsumsi dalam jumlah besar dan jangka waktu yang lama, sehingga antibiotik tidak boleh ditambahkan pada pakan buatan untuk hewan ternak (Yuningsih dkk, 2005).

Jenis antibiotik yang sering ditambahkan pada pakan hewan ternak adalah kloramfenikol (CAP). Kloramfenikol merupakan antibiotik yang bersifat bakteriostatik dan mempunyai spektrum yang luas. Kloramfenikol mulai digunakan sejak tahun 1950-an untuk pengobatan penyakit pada hewan ternak. Karena resiko yang telah diketahui akibat pemakaian kloramfenikol seperti anemia aplastik dan sifat karsinogeniknya, maka penggunaan kloramfenikol sebagai obat pada manusia dan hewan telah dibatasi (Soekardjo, 1995). Sebagai konsekuensinya, *European Community* telah melarang penggunaan kloramfenikol pada hewan ternak sejak tahun 1994. Sedangkan menurut Standar Nasional Indonesia (SNI 01- 6366-2000), batas maksimum residu antibiotik dalam makanan berupa hewan yang masih boleh dikonsumsi untuk antibiotik kloramfenikol adalah 0,01 ppm (Fathonah, 2018).

Sehingga dibutuhkan metode analisis yang dapat mendeteksi kadar residu kloramfenikol dalam jumlah yang sangat kecil seperti metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Ardianingsih, 2009). Metode analisis menggunakan HPLC ini telah dikembangkan oleh Badan Standarisasi Nasional (BSN) dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 2354.9:2009 tentang penentuan residu kloramfenikol dengan

HPLC pada produk perikanan (Panggabean, 2012). Metode ini dinilai memiliki efektivitas tinggi, selektivitas dan sensitivitas yang baik sehingga tepat digunakan untuk menganalisis sampel dalam kadar yang sangat kecil. Selain itu HPLC mampu memisahkan suatu senyawa dari campuran kompleks dengan baik (Wibowo dkk, 2010).

Berdasarkan masih banyaknya penyalahgunaan antibiotik seperti kloramfenikol pada pakan buatan hewan ternak, maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menentukan adanya kadar residu kloramfenikol pada sampel udang windu menggunakan HPLC.

METODE

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel udang windu yang berasal dari Pelabuhan Perikanan Samudera (PPS) Kutaradja secara acak sederhana (*random sampling*).

Larutan baku pembanding kloramfenikol dilakukan dengan menimbang baku kloramfenikol sebanyak 0,1 g.

Daging udang windu sebanyak 150 g dibersihkan dan dipisahkan dari cangkangnya, lalu di haluskan sampai homogen. Ditimbang sampel daging udang windu yang telah dihomogenkan lebih kurang 15 g ke dalam 3 tabung reaksi yang berukuran 50 mL, dimana masing-masing tabung berisi 5 g daging udang windu.

Uji kualitatif dilakukan dengan cara uji pewarnaan. Pada uji pewarnaan, dilakukan dengan pereaksi NaOH dengan cara diambil 2 mL supernatan, lalu direaksikan dengan 2 g NaOH dan 3 mL akuades, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Jika dalam ekstrak udang windu tersebut terdapat residu kloramfenikol, maka supernatan udang windu akan mengalami perubahan warna yang semula jernih berubah menjadi kuning (Fathonah, 2018).

Uji kuantitatif dapat dilakukan dengan proses ekstraksi daging udang windu selanjutnya yaitu lapisan supernatan di uapkan hingga hampir kering. Ekstrak yang diperoleh dilarutkan kembali dengan cara menambahkan campuran 1,4 mL campuran n-heksana:kloroform (1:1) dan ditambahkan 0,7 mL air pro hplc. Filtrat ini siap untuk diinjeksikan ke injektor HPLC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan pereaksi NaOH, dimana jika dipanaskan sampai mendidih, maka ekstrak daging udang windu akan mengalami perubahan warna yang semula jernih berubah menjadi kuning kuat. Perubahan warna ini mengidentifikasi bahwa pada udang winduyang berasal dari Banda Aceh, terdapat zat kloramfenil.

Tabel.1 Data Hasil Uji Kualitatif Menggunakan Pereaksi NaOH (Fathonah, 2018)

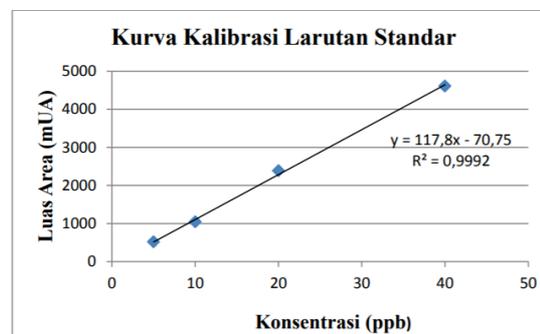
No	Sampel+ Pereaksi	Hasil
1	Blanko (kloramfenikol) + NaOH	Berwarna kuning
2	Tabung 1 + NaOH	Tidak berwarna
3	Tabung 2 + NaOH	Tidak berwarna
4	Tabung 3 + NaOH	Tidak berwarna

Berdasarkan data tabel 2, dapat dibuat kurva larutan standar kloramfenikol dengan perbandingan luas area/puncak terhadap konsentrasi sebagaimana digambarkan pada gambar 1.

Tabel 2. Data Penentuan Linearitas Kurva Larutan Standar

Keterangan	Konsentrasi (ppb)	Luas area (mUA)
Standar 1	5	516

Standar 2	10	1044
Standar 3	20	2384
Standar 4	40	4608



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Larutan

Penggunaan antibiotik tidak terbatas hanya ditujukan untuk terapi pada manusia, namun digunakan pula untuk pengobatan pada hewan khususnya hewan ternak dan budidaya perairan seperti udang windu (*Penaeus monodon*) (Wibowo dkk, 2010). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat berpotensi menyebabkan residu dalam jaringan organ hewan ternak yang apabila dikonsumsi oleh manusia akan berbahaya bagi kesehatan. Bahaya yang dapat ditimbulkan oleh residu antibiotik adalah reaksi alergi, keracunan bahkan resistensi jika dikonsumsi dalam jumlah besar dan jangka waktu yang lama (Yuningsih dkk, 1994). Jenis antibiotik yang sering ditambahkan pada pakan ternak hewan adalah kloramfenikol. Karena sifatnya yang berbahaya dan karsinogenik, maka Standar Nasional Indonesia (SNI 01-6366-2000) telah menetapkan batas maksimum residu antibiotik dalam makanan yang masih boleh dikonsumsi untuk antibiotik kloramfenikol adalah sebesar 0,01 ppm

Uji Kualitatif

Uji Kualitatif dilakukan dengan cara diambil 2 mL supernatan, lalu direaksikan dengan 2 gram NaOH dan 3 mL aquades, kemudian dipanaskan sampai mendidih.

Hasil yang didapat dalam sampel ekstrak daging udang windu dari PPS Kutaradja tersebut menunjukkan negatif adanya residu kloramfenikol. Menurut hasil penelitian dari Fathonah (2018), uji kualitatif residu kloramfenikol menggunakan pereaksi NaOH, jika dipanaskan sampai mendidih, maka ekstrak daging udang windu akan mengalami perubahan warna yang semula jernih berubah menjadi kuning kuat. Namun hasil yang didapat setelah pemanasan, larutan tidak mengalami perubahan warna. Hal ini dimungkinkan karena residu kloramfenikol ekstrak daging udang windu berada dalam konsentrasi yang sangat kecil yakni *part per billion* (ppb). Sehingga apabila digunakan pereaksi seperti NaOH, uji kualitatif tersebut tidak cukup sensitif untuk mendeteksi keberadaan residu kloramfenikol.



Gambar 2. Hasil Uji Kualitatif Residu Kloramfenikol

Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif dilakukan dengan menginjeksikan supernatan pada HPLC. Komponen yang harus diperhatikan dalam proses injeksi adalah fase gerak dan fase diam yang digunakan. Penelitian ini menggunakan kolom kromatografi cairan fase terbalik (*reversed phase*), yaitu fase gerak yang digunakan lebih polar bila dibandingkan dengan fasa diam yang bersifat nonpolar. Kolom yang digunakan pada fase diam berupa kolom C-18 (150 mm x 4,6 mm) dengan diameter 5 μ m. Untuk penentuan kloramfenikol digunakan fasa gerak metanol pro HPLC dan air pro

HPLC, karena kloramfenikol larut dalam metanol dan air. Fase gerak dibuat dengan campuran metanol : air pro HPLC pada perbandingan (40:60) karena memiliki tingkat kepolaran yang tepat untuk mengelusi kloramfenikol dari kolom yang bersifat non polar, dengan laju alir 1 mL per menit dan panjang gelombang 278 nm.

Hasil yang diperoleh dari injeksi sampel udang windu (*Penaeus monodon*) yaitu berupa kromatogram, dimana kromatogram ini terdiri dari waktu retensi (RT) dan luas area/puncak. Informasi RT dapat digunakan untuk analisis kualitatif, sedangkan informasi luas area/puncak dapat digunakan untuk analisis kuantitatif. Pembacaan kromatogram dapat dilihat dari nilai RT sampel yang sama atau mendekati dengan nilai RT larutan standar. Nilai RT rata-rata dari keempat larutan standar yaitu 0,110, sedangkan nilai RT sampel yang diperoleh yaitu 0,113 dengan luas area/puncak sebesar 219,44365 mUA.

Berdasarkan tabel 4.2 data penentuan kurva larutan standar, diperoleh persamaan garis linear yaitu $y = 117,8x - 70,75$. Persamaan ini dapat digunakan untuk menentukan kadar residu yang terkandung dalam ekstrak daging udang windu. Penentuan kadar residu dalam ekstrak daging udang windu dapat ditentukan dengan mengganti nilai y pada persamaan garis linear dengan nilai luas area pada sampel. Sehingga diperoleh hasil bahwa kadar residu yang terdapat pada sampel udang windu sebesar 0,0024634 ppm. Hasil yang diperoleh tidak melebihi Batas Maksimum Residu (BMR) antibiotik pada udang yang telah ditetapkan. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI 01- 6366-2000), batas maksimum residu antibiotik dalam makanan yang masih boleh dikonsumsi untuk antibiotik kloramfenikol adalah 0,01 ppm. Dapat dikatakan bahwa udang windu (*penaeus monodon*) yang berasal dari PPS Kutaradja masih aman untuk dikonsumsi, dikarenakan residu kloramfenikol yang terdapat di dalamnya

masih berada di bawah BMR sesuai dengan (SNI 01- 6366-2000).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Putra (2016) tentang pemeriksaan kloramfenikol pada sampel udang vanammei beku menggunakan metode ELISA menunjukkan adanya residu kloramfenikol sebesar 0,015 - 0,215 ppb. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Wibowo dkk, (2010) tentang analisis residu kloramfenikol pada ikan gurami dengan metode HPLC menunjukkan adanya residu kloramfenikol pada ketiga sampel, yaitu sebesar 0,276; 0,281; dan 1,168 ppb. Dari hasil residu kloramfenikol yang diperoleh, metode yang paling baik untuk menganalisis residu kloramfenikol adalah metode HPLC. Metode HPLC dinilai memiliki efektivitas tinggi, selektivitas dan sensitivitas yang baik sehingga tepat digunakan untuk menganalisis sampel dalam kadar yang sangat kecil, yaitu dalam kisaran *part per billion* (ppb).

DAFTAR RUJUKAN

- Ardianingsih, R. (2009). Penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Dalam Proses Analisis Deteksi Ion. *Jurnal Berita Dirgantara*, 10(4), 101-104.
- Fathonah, E. (2018). Analisis Kadar Residu Antibiotik Kloramfenikol Pada Hati Ayam Dari Daerah Cimahi Dengan Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Tesis*, 1-39.
- Maharani, G., Sunarti., Triastuti, J., dan Juniastuti, T. (2009). Kerusakan Dan Jumlah Hemosit Udang Windu (*Penaeus monodon*) Yang Mengalami Zoothamniosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 1(1), 21-29.
- Panggabean, A.S. (2012). Penentuan Kloramfenikol dalam Daging Ayam Broiler Dengan Metode High Performance Liquid Chromatography. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 9(2), 56-61.
- Putra, T. F. (2016). Pemeriksaan Kloramfenikol Pada Sampel Udang Vanammei Beku Di UPT Pengendalian Dan Pengujian mutu Hasil Perikanan (PPMHP), Surabaya. *Tesis*, 1-51.
- Standar Nasional Indonesia, SNI 2354.9:2009, 2009. Penentuan Residu Kloramfenikol Dengan KCKT Pada Produk Perikanan. Dewan Standarisasi nasional-DSN. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Standar Nasional Indonesia, SNI No : 01-6366-2000, 2000. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Bata Maksimum Residu dalam Bahan Asal Hewan. Dewan Standarisasi

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah residu kloramfenikol pada sampel udang windu (*Penaeus monodon*) dapat dianalisis menggunakan HPLC.

Kadar residu kloramfenikol pada udang windu (*Penaeus monodon*) dari Pelabuhan Perikanan Samudera (PPS) Kutaradja adalah sebesar 0,0024634 ppm. Dapat dikatakan bahwa udang windu dari PPS kutaradja masih aman untuk dikonsumsi karena tidak melewati BMR yang telah ditetapkan oleh SNI 01- 6366-2000 yaitu sebesar 0,01 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Pengujian dan Penerapan Mutu Hasil Perikanan (PPMHP).

- Nasional-DSN.Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- Suwoyo, H. S., & Sahabuddin. (2017). Performa Pertumbuhan Calon Induk Udang Windu (*Panaeus monodon*) Transfeksi Pada Generasi Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*,9(1), 185-199.
- Wardana, M. Y. (2011). Kajian Prospek Komoditas Induk Udang Windu Pada Kawasan Pesisir Perairan Pantai Di Daerah Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Agriseip*,12(11), 1-9.
- Wibowo, A., Muliani, L., & Prabowo, M. H. (2010). Analisis Residu Antibiotik Kloramfenikol Dalam Daging Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy, Lac*) menggunakan Metode High Performance Liquid Chromatography. *Jurnal Ilmiah Farmasi*,7(1), 23-37.
- Yuningsih., Murdiati, T. B., & Juariah, S. (2005). Keberadaan Residu Antibiotik Tilosin (golongan makrolida) Dalam Daging Ayam Asal Daerah Sukabumi, Bogor Dan Tangerang. *Jurnal Penelitian Valentir*,2(3), 921-925.