

ABSTRACT

Furazolidone, furaltadone, and nitrofurantoin are nitrofuran antibiotics that are still illegally used as feed additives in shrimp farming. Due to their carcinogenicity, it is therefore needed to control the food products containing shrimps as the main ingredient. Nitrofurans are readily metabolized to the corresponding metabolites in the animal tissue. This study aims to validate the HPLC method for determining levels of nitrofuran metabolites in shrimp meatballs. The metabolites of furazolidone, furaltadone and nitrofurantoin i.e. 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ), 3-amino-5-methylmorpholino-2-oxazolidinone (AMOZ) and 1-aminohydantoin (AHD) were derivatized with 2-nitrobenzaldehyde, extracted into ethyl acetate, washed with hexane and applied to HPLC with UV-PDA detection. The separation was performed on C-18 column 46x250 mm, 5 μ m using the mobile phase of 20 mM ammonium acetate and acetonitrile (70:30), with a flow rate of 0.5 ml/min and column temperature of 40°C, injection volume of 100 μ L. The method showed good separation of metabolites and other interferences with analysis time of 40 minutes, resulting good linear response in the concentration ranging from 50 to 100 ng/mL. The accuracy was found to be 79.82-103.99% for AOZ; 79.86-100.68% for AMOZ; and 89.70-103.62% for AHD; whereas the RSD for repeatability test was 6.12-20.02%; 4.15-19.48%; and 3.30-14.38% for AOZ, AMOZ and AHD. LOD and LOQ obtained were between 3.09 and 10.29 ng/mL (AOZ); 6.84 and 22.82 ng/mL (AMOZ); and 4.61 and 15.36 ng/mL (AHD). The proposed method can be used as screening method for detection of nitrofuran metabolite contamination in shrimp meatballs.

Keywords: AOZ, AMOZ, AHD, nitrofuran metabolite, high performance liquid chromatography

DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN.....	i
SAMPUL DALAM.....	ii
PRASYARAT GELAR.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
PANITIA PENGUJI TESIS.....	v
LEMBAR PERNYATAAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
RINGKASAN.....	ix
ABSTRAK.....	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Nitrofurantoin	8
2.1.1 Furazolidon dan AOZ.....	9
2.1.2. Furaltadon dan AMOZ	10
2.1.3. Nitrofurantoin dan AHD	11
2.2. Derivatisasi Metabolit Nitrofurantoin.....	13
2.3. Pangan Olahan Udang.....	13
2.4. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	14
2.4.1 Komponen KCKT.....	16
2.4.1.1. <i>Reservoir</i> dan Fase Gerak.....	17
2.4.1.2. Pompa.....	18

2.4.1.3. Injektor.....	18
2.4.1.4. Kolom.....	19
2.4.1.5. Detektor.....	19
2.5. Validasi metode analisis.....	20
2.5.1. Selektivitas/spesifisitas.....	22
2.5.2. Linearitas.....	23
2.5.3. Akurasi.....	24
2.5.4. Batas deteksi dan batas kuantitasi.....	25
2.5.5. Rentang.....	25
2.6. Preparasi Sampel.....	25
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS.....	27
3.1. Kerangka Konseptual.....	27
3.2. Bagan Kerangka Konseptual.....	29
3.3. Hipotesis Penelitian.....	30
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	31
4.1. Rancangan Penelitian.....	31
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	31
4.2.1. Variabel Penelitian.....	31
4.2.2. Definisi operasional.....	32
4.3. Instrumen Penelitian.....	32
4.4. Bahan.....	32
4.5. Lokasi, Waktu dan Biaya.....	33
4.6. Cara Kerja.....	33
4.6.1. Pembuatan matriks sampel.....	33
4.6.2. Pembuatan larutan baku induk (50 µg/mL).....	33
4.6.3. Pembuatan larutan baku antara tunggal (1000 ng/ml)	34
4.6.4. Pembuatan larutan baku antara campuran (1000 ng/ml).....	34
4.6.5. Optimasi metode ekstraksi dan kondisi KCKT.....	34
4.6.5.1. Penentuan panjang gelombang analisis.....	35
4.6.6. Uji Kesesuaian Sistem.....	36
4.6.7. Validasi Metode.....	36

4.6.7.1. Selektivitas.....	36
4.6.7.2. Linieritas dan rentang.....	37
4.6.7.3. Akurasi.....	37
4.6.7.4. Presisi.....	38
4.6.7.5. Batas deteksi dan batas kuantitasi.....	38
4.7. Pengolahan dan Analisis Data.....	39
4.8. Kerangka Operasional.....	40
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	41
5.1. Optimasi Metode.....	41
5.1.1. Optimasi Metode Ekstraksi dan Kondisi KCKT.....	41
5.1.2. Penentuan Panjang Gelombang Analisis.....	43
5.2. Uji Kesesuaian Sistem.....	45
5.3. Validasi Metode.....	45
5.3.1. Uji Selektivitas.....	45
5.3.2. Linieritas dan Rentang.....	47
5.3.3. Akurasi.....	51
5.3.4. Presisi.....	53
5.3.5. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi (LOD dan LOQ)	55
BAB 6 PEMBAHASAN.....	56
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	63
7.1. Kesimpulan.....	63
7.2. Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA.....	64
LAMPIRAN.....	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Rumus struktur gugus nitrofuran.....	9
Gambar 2.2. Rumus struktur furazolidon dan AOZ.....	10
Gambar 2.3. Rumus struktur furaltadon dan AMOZ.....	11
Gambar 2.4. Rumus struktur nitrofurantoin dan AHD.....	12
Gambar 2.5. Reaksi hidrolisis dan derivatisasi AOZ.....	13
Gambar 2.6. Skema sistem KCKT.....	16
Gambar 3.1. Diagram Kerangka Konseptual.....	29
Gambar 4.1. Diagram kerangka Operasional.....	40
Gambar 5.1. Spektrum baku metabolit nitrofuran menggunakan detektor PDA.....	44
Gambar 5.2. Kromatogram matriks sampel.....	46
Gambar 5.3. Kromatogram analit pada uji selektivitas.....	46
Gambar 5.4. Linieritas AOZ pada rentang konsentrasi 50,19-100,39 ng/mL	48
Gambar 5.5. Linieritas AMOZ pada rentang konsentrasi 51,12-102,23 ng/mL.....	48
Gambar 5.6. Linieritas AHD pada rentang konsentrasi 49,78-99,57 ng/mL	49

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Pengolahan dan Analisis Data.....	39
Tabel 5.1. Hasil optimasi metode ekstraksi dan kondisi KCKT.....	42
Tabel 5.2. Kondisi elusi gradien pada optimasi kondisi KCKT.....	43
Tabel 5.3. Hasil Uji Kesesuaian Sistem pada kondisi KCKT terpilih.....	45
Tabel 5.4. Hasil analisis <i>Similarity Index</i> pada kondisi KCKT terpilih.....	47
Tabel 5.5. Hasil uji linieritas AOZ, AMOZ dan AHD pada kondisi KCKT optimum.....	49
Tabel 5.6. Hasil uji Mandel untuk linieritas AOZ, AMOZ, dan AHD.....	51
Tabel 5.7. Hasil uji akurasi AOZ.....	52
Tabel 5.8. Hasil uji akurasi AMOZ.....	52
Tabel 5.9. Hasil uji akurasi AHD.....	53
Tabel 5.10. Hasil Uji Presisi AOZ.....	54
Tabel 5.11. Hasil Uji Presisi AMOZ.....	54
Tabel 5.12. Hasil Uji Presisi AHD.....	55
Tabel 5.13. Batas deteksi dan batas kuantitasi AOZ, AMOZ, dan AHD.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Kromatogram Hasil Optimasi Metode Ekstraksi dan Kondisi KCKT.....	69
Lampiran 2 Kromatogram Baku Tunggal AOZ, AMOZ, dan AHD pada Kondisi KCKT Terpilih.....	73

DAFTAR SINGKATAN

AMAZ	3-amino-5-methylmorpholino-2-oxazolidinone
AOZ	3-amino-2-oxazolidinone
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
AHD	1-aminohydantoin
BPOM RI	Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
JECFA	<i>Joint FAO/WHO Expert Committee On Food Additives</i>
KCKT	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
2-NBA	2-nitrobenzaldehida
PDA	<i>Photodiode array</i>
UKS	Uji Kesesuaian Sistem
USP	<i>United States Pharmacopoeia</i>