

## RINGKASAN

**VALIDASI METODE ANALISIS RESIDU ANTIBIOTIKA  
OKSITETRASIKLIN DAN TETRASIKLIN PADA UDANG SECARA  
HPLC**

Levi Puradewa

Oksitetrasiklin dan tetrasiklin termasuk salah satu antibiotika yang digunakan pada budidaya udang. Timbulnya residu oksitetrasiklin dan tetrasiklin disebabkan oleh penggunaan antibiotik tersebut dalam pakan udang, selain itu juga disebabkan oleh penggunaan oksitetrasiklin dan tetrasiklin pada pencegahan dan pengobatan penyakit.

The European Agency for The Evaluation of Medicinal Products memberikan persyaratan bahwa maksimum residu oksitetrasiklin dan tetrasiklin yang diperbolehkan ada pada udang adalah 0.1 µg/mL. Oleh sebab itu perlu dilakukan validasi metode analisis residu oksitetrasiklin dan tetrasiklin dalam udang.

Untuk preparasi sampel udang dilakukan dengan dua cara yaitu, pemisahan secara KLT-Preparatif dan *SPE*. KLT-Preparatif dilakukan dengan menotolkan sampel udang pada lempeng KLT-Preparatif yang kemudian dielusi, sedangkan untuk *SPE* proses pemisahan dilakukan dengan memsukan sampel pada alat *SPE* kemudian mengelusi sampel tersebut dengan metanol, tampungan metanol selanjutnya dianalisis dengan *HPLC*.

Validasi metode analisis oksitetrasiklin dan tetrasiklin dalam udang secara *HPLC* didahului dengan proses optimasi kondisi *HPLC* dan optimasi eluen KLT-Preparatif. Optimasi kondisi *HPLC* dilakukan untuk mendapatkan puncak oksitetrasiklin dan tetrasiklin yang terpisah dan terpisah dengan komponen lain yang berasal dari metanol maupun sampel udang. Kondisi optimum *HPLC* untuk pemisahan oksitetrasiklin dengan tetrasiklin maupun dengan komponen lain dalam sampel dengan menggunakan kolom Hypersil BDS C-18 5µm, 4,6mm x 250mm, fase gerak metanol : asetonitril : asam oksalat 0,01M(pH=2,5) = 5 : 15 : 80 (v/v/v), aliran 1,0 mL/menit, dan dengan detektor *diode-array*, dengan mode isokratis. Optimasi eluen KLT-Preparatif dilakukan untuk menentukan eluen yang dapat memisahkan noda oksitetrasiklin dan tetrasiklin dengan komponen lain dalam udang digunakan metanol : asetonitril = 4 : 1, setelah lempeng KLT-Preparatif diimpregnasi dengan 5% larutan EDTA.

Dari hasil uji secara kualitatif maupun kuantitatif didapatkan harga parameter validasi sebagai berikut: koefisien korelasi ( $r$ ) untuk oksitetrasiklin = 0,99919 dengan rentang konsentrasi 0,514 – 5,140 µg/mL sedangkan untuk tetrasiklin ( $r$ ) = 0,99913 dengan rentang konsentrasi 0,514 – 5,145 µg/mL. Faktor selektivitas antara oksitetrasiklin dengan komponen lain ( $\alpha$ ) = 1,91, derajat keterpisahan ( $R_s$ ) = 3,10 sedangkan faktor selektivitas antara oksitetrasiklin dan tetrasiklin ( $\alpha$ ) = 1,16, derajat keterpisahan ( $R_s$ ) = 1,65. Batas deteksi untuk oksitetrasiklin ( $LOD$ ) = 0,19 µg/mL, batas kuantitasi ( $LOQ$ ) = 0,65 µg/mL, sedangkan batas deteksi untuk tetrasiklin ( $LOD$ ) = 0,13 µg/mL, batas kuantitasi

**ABSTRACT**

The high performance liquid chromatographic determination of oxytetracycline and tetracycline used in shrimp has been developed. The extraction and clean-up were performed by using either TLC treated EDTA with methanol : acetonitrile (4:1) as mobile phase or SPE (Solid Phase Extraction) with methanol as mobile phase. The extract containing oxytetracycline and tetracycline was examined by HPLC using Hypersil BDS 5  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4,6 mm column and a mobile phase of methanol : acetonitrile : 10mM oxalic acid (pH 2.5) = 5 : 15 : 80 (v/v/v). The mobile phase flow rate was  $1.0\text{mL min}^{-1}$ , and UV detection is performed at 365 nm with a photo-diode array detector. The average recoveries of 100 g blank samples spiked with 5 mg of standards cleaned up with preparative TLC were 0.38% (CV = 0.05%, n = 4) for oxytetracycline and 0.92% (CV = 0.01%, n = 4) for tetracycline ; whilst the average recoveries of 20 g blank samples spiked with 0.1 mg of standards and clean-up with SPE method were 46.25% (CV = 1.99%, n = 4) for oxytetracycline and 69.92% (CV = 1.92%, n = 4) for tetracycline. The limit of detection was 0.19  $\mu\text{g/mL}$  and 0.13  $\mu\text{g/mL}$  for oxytetracycline and tetracycline, respectively. The limit of quantitation for oxytetracycline was 0.65  $\mu\text{g/mL}$  whereas 0.43  $\mu\text{g/mL}$  for tetracycline.

**Keywords:** Oxytetracycline, tetracycline, shrimps, HPLC, method validation.