

SPIRAMYCIN

KK  
FF. 89/04.  
RAC  
J

**SKRIPSI**

**ANDHI RACHMAN**

**VALIDASI METODE ANALISIS RESIDU SPIRAMISIN  
DALAM UDANG SECARA *HPLC* DENGAN  
PREPARASI SAMPEL *SPE* DAN *KLT* - PREPARATIF**

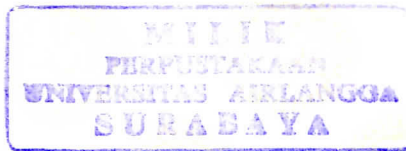
MILIT  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA  
BAGIAN KIMIA FARMASI  
SURABAYA**

**2004**

Lembar Pengesahan



**VALIDASI METODE ANALISIS RESIDU SPIRAMISIN  
DALAM UDANG SECARA *HPLC* DENGAN  
PREPARASI SAMPEL *SPE* DAN *KLT* - PREPARATIF**

**SKRIPSI**

**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi pada  
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga  
2004**

Oleh :

**ANDHI RACHMAN  
059912144**

Disetujui Oleh :

**Pembimbing Utama**

**Pembimbing Serta**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Mochammad Yuwono".

**Dr. rer. nat H. Mochammad Yuwono, MS**  
**NIP. 131569384**

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Isnaeni".

**Dr. Hj. Isnaeni, MS**  
**NIP. 131125009**



## RINGKASAN

### VALIDASI METODE ANALISIS RESIDU SPIRAMISIN DALAM UDANG SECARA *HPLC* DENGAN PREPARASI SAMPEL *SPE* DAN *KLT* – PREPARATIF

Andhi Rachman

Negara-negara pengimpor udang memberikan persyaratan ketat terhadap kandungan residu antibiotika dan akan menolak apabila di dalam udang ekspor terbukti mengandung residu antibiotika melebihi batas yang diizinkan. Persyaratan tersebut diberikan karena residu antibiotika yang terakumulasi dapat membahayakan manusia.

Spiramisin termasuk salah satu antibiotika yang digunakan pada budidaya udang. Timbulnya residu spiramisin dalam udang disebabkan oleh penggunaan spiramisin dalam pakan udang, selain itu juga di sebabkan oleh penggunaan spiramisin pada pencegahan dan pengobatan penyakit.

The European Agency for The Evaluation of Medicinal Products memberikan persyaratan bahwa maksimum residu spiramisin yang diperbolehkan ada pada udang adalah 50 µg/ Kg udang. Oleh sebab itu perlu dilakukan validasi metode analisis residu spiramisin 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 dielus, noda yang sesuai dengan *R<sub>f</sub>* standar spiramisin dikerok untuk dianalisis, sedangkan untuk *SPE* proses pemisahan dilakukan dengan memasukkan sampel pada alat *SPE* kemudian mengelusi sampel tersebut dengan aseton, tampungan aseton selanjutnya dianalisis dengan *HPLC*.

Validasi metode analisis spiramisin dalam udang secara *HPLC* didahului dengan proses optimasi kondisi *HPLC* dan optimasi eluen *KLT*-Preparatif. Optimasi kondisi *HPLC* dilakukan untuk mendapatkan puncak spiramisin yang terpisah dengan komponen lain yang berasal dari metanol maupun sampel udang. Kondisi optimum *HPLC* untuk pemisahan spiramisin dengan komponen lain dalam sampel dengan menggunakan kolom Hypersyl BDS C-18 5µm, 4,6mm x 250 mm, fase gerak CH<sub>3</sub>OH : 20mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH7.0) = 80 : 20 (v/v), aliran 1,0 mL / menit, dan dengan detektor *diode array*, dengan mode isokratik. Optimasi eluen *KLT*-Preparatif dilakukan untuk menentukan eluen yang dapat memisahkan noda spiramisin dengan noda komponen lain yang berasal dari sampel. Eluen untuk memisahkan spiramisin dengan komponen lain dalam udang digunakan asetonitril : 0,2% as. perklorat (2:3).

Dari hasil uji secara kualitatif maupun kuantitatif didapatkan harga parameter validasi sebagai berikut: koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,99929 dengan rentang konsentrasi antara 0.0485 – 0.9700 µg/mL, faktor selektifitas ( $\alpha$ ) = 1,1; derajat keterpisahan ( $R_s$ ) = 2,6; batas deteksi ( $LOD$ ) = 0,05 µg/mL, batas kuantisasi ( $LOQ$ ) = 0,16 µg/mL, presisi *HPLC* ( $KV$ ) = 0.09% (untuk waktu tambat spiramisin),  $KV$  = 2.09% (untuk area puncak spiramisin), dan  $KV$  = 1.80%

(untuk tinggi puncak spiramisin). Untuk parameter akurasi diperoleh harga persen perolehan kembali spiramisin dalam udang dengan pemisahan secara KLT-Preparatif = 9.53% dengan presisi metode (KV) = 10.32%, dan persen perolehan kembali spiramisin dalam udang dengan pemisahan secara *SPE* = 58.52% dengan presisi metode (KV) = 3.83%.

## ABSTRACT

The high performance liquid chromatographic determination of spiramycin used in shrimp has been developed. Separation was performed by using either tlc-preparative with acetonitrile : 0,2% perchloric acid (2:3) as mobile phase or SPE (Solid Phase Extraction) with asetone as mobile phase. The extracts containing spiramycin examined by HPLC using a Hypersil BDS 5  $\mu\text{m}$ , 250 mm; 4,6 mm column and a mobile phase of  $\text{CH}_3\text{OH} : 20\text{mM K}_2\text{HPO}_4$  (pH7.0) = 80 : 20 (v/v), the mobile phase flow rate is  $1.0 \text{ mL min}^{-1}$ , and UV detection is performed at 232 nm with a photo-diode array detector. The average recoveries from 5 mg spiramycin added to 100 g sample were 9.53%; CV=10.32% and 58.52%; CV=3.83% for tlc-preparative and SPE, respectively. The limit of detection was  $0,05 \mu\text{g/mL}$  and the limit of quantitation was  $0,16 \mu\text{g/ mL}$ .

**Keywords:** Spiramycin, separation, shrimp, HPLC, limit of detection, limit of quantitation