

PENETAPAN KADAR RESIDU SPIRAMISIN DALAM DAGING AYAM DI JAKARTA, CIBINONG DAN SUKABUMI

Indri Rooslamati*

Abstrak

Spiramisin adalah antibiotika golongan makrolida yang dapat digunakan untuk pengobatan maupun untuk pemacu pertumbuhan ternak. Penggunaan spiramisin dapat meninggalkan residu yang dapat merugikan kesehatan konsumen apabila waktu henti obat tidak dipatuhi. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui adanya perbedaan residu dalam daging ayam yang berasal dari dua tempat berbeda yaitu pasar swalayan dan pasar tradisional yang berada di wilayah Jakarta, Bogor, Cibinong dan Sukabumi. Umur ayam 40 hari. Penetapan kadar residu spiramisin menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Hasil analisa menunjukkan adanya residu spiramisin pada contoh daging ayam tetapi tidak ada yang melebihi batas maksimum SNI No:01-6366-2000 yaitu 0,05 ppm.

Kata kunci: spiramisin, residu, penetapan kadar

Pendahuluan

Daging ayam merupakan salah satu sumber protein hewani yang sangat digemari oleh masyarakat. Seiring dengan meningkatnya permintaan masyarakat akan daging ayam, maka diusahakan berbagai cara untuk dapat meningkatkan produksi ayam pedaging, khususnya ayam broiler. Salah satu caranya yaitu dengan penggunaan obat-obatan, khususnya antibiotika.¹

Pemakaian antibiotika dalam bidang peternakan dewasa ini semakin meningkat intensitasnya baik dari segi jumlah, jenis dan cara penggunaannya. Antibiotika dalam bidang peternakan selain digunakan untuk pengobatan juga digunakan untuk pemacu pertumbuhan yang umumnya ditambahkan dalam pakan (imbuhan pakan). Pengobatan dengan antibiotika pada ternak diharapkan dapat mengurangi risiko kematian, menghambat penyebaran penyakit ke ternak lainnya, ataupun ke manusia.

Dengan memberikan antibiotika diharapkan terjadi penyembuhan yang cepat, sehingga ternak dapat segera kembali berproduksi secara optimal dan kerugian ekonomi yang lebih besar dapat dihindari. Pemberian antibiotika sebagai imbuhan

pakan juga diharapkan dapat mengurangi biaya produksi karena ternak akan berproduksi secara optimal sehingga diharapkan dapat meningkatkan keuntungan.²

Studi di Inggris menunjukkan bahwa penggunaan antibiotika dalam pakan dapat mengurangi penggunaan pakan sebesar 3% dan meningkatkan produksi ayam sebesar 10%. Hal inilah yang menyebabkan pemakaian antibiotika terutama pada ayam pedaging sekarang ini umumnya sebagai pemacu pertumbuhan ternak. Pemakaian antibiotika oleh peternak ayam pedaging di daerah DKI Jakarta dan Jawa Barat adalah: 48% peternak ayam menggunakan antibiotika jenis tunggal untuk pengobatannya, 35% peternak sudah menggunakan antibiotika campuran, dan 97% peternak menggunakan antibiotika sebagai imbuhan pakan (*feed additive*).^{1,3,4}

Meningkatnya penggunaan antibiotika pada hewan ternak dapat menimbulkan beberapa masalah, di antaranya yaitu residu antibiotika. Residu antibiotika adalah senyawa asal atau metabolitnya yang terdapat dalam jaringan produk hewani dan termasuk residu hasil uraian lainnya dari obat yang dimaksud. Salah satu faktor yang menyebabkan adanya residu yaitu apabila masa panen atau pemotongan tidak memperhatikan waktu henti

* Puslitbang Biomedis dan Farmasi

(*withdrawal time*) yaitu waktu yang perlu dilewati agar residu antibiotik tersebut berkurang sampai batas aman untuk dikonsumsi. Pemakaian antibiotika sebagai imbuhan pakan memperbesar peluang residu karena ternak dalam proses produksinya akan mengkonsumsi pakan yang mengandung antibiotika terus menerus sampai dipotong. Seharusnya pakan ternak diganti dengan yang tidak mengandung antibiotika, tetapi hal ini sulit dilakukan karena umumnya peternak tidak melakukan hal tersebut. Selain itu juga peternak tidak mau merugi, ternak tetap akan dipotong walaupun masih dalam pengobatan. Kurangnya informasi mengenai waktu henti dan sikap produsen atau peternak yang lebih mementingkan segi keuntungan dibandingkan unsur kesehatan konsumen juga merupakan penyebab masalah ini.^{1,5}

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai residu antibiotika dalam daging ayam, dalam hal ini residu antibiotik golongan makrolid yaitu spiramisin. Spiramisin merupakan campuran dari spiramisin I, II dan III. Spiramisin sangat baik digunakan untuk infeksi kuman gram positif terutama stafilokokus, pneumokokus dan streptokokus, infeksi saluran pernafasan seperti bronkitis, pneumonia, faringitis, tonsilitis, otitis media, dan efektif untuk infeksi mulut, gigi, saluran kemih dan gonore. Penggunaan spiramisin dalam

bidang peternakan adalah untuk pencegahan dan pengobatan penyakit hewan ternak yang disebabkan oleh bakteri gram positif, segolongan kecil gram negatif, beberapa riketsia dan untuk membunuh kuman *Micoplasma gallisepticum* sebagai penyebab utama CRD (*Chronic Respiratory Disease*).⁶

Pengaruh residu antibiotika dalam makanan terhadap manusia di antaranya adalah dapat menyebabkan alergi bagi konsumen yang hiper sensitif, membuat resisten bakteri patogen sehingga dapat menyebabkan berkembangnya suatu penyakit yang tidak dapat dikontrol dengan antibiotika lain. Sedangkan efek samping dari spiramisin yaitu intoleransi gastrointestinal, kram perut, mual, dan muntah. Dewan Standardisasi Nasional telah mengeluarkan persyaratan mutu batas maksimum residu dalam bahan makanan asal hewan yang tertuang dalam SNI No: 01-6366-2000 tabel 4 menyebutkan bahwa batas maksimum residu spiramisin dalam daging, telur dan susu adalah 0,05 mg/kg.^{5,7}

Analisis residu antibiotika spiramisin ini menggunakan alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) karena cepat, mampu mendeteksi residu antibiotika dalam jumlah yang relatif kecil dari bahan yang diperiksa dan kemampuan pemisahan atau resolusi yang baik.

Tabel 1. Lokasi Pengambilan Sampel

No	Tempat Pengambilan	Kota
1	Pasar A	Bogor
2	Pasar B	Bogor
3	Pasar C	Sukabumi
4	Pasar D	Cibinong
5	Pasar E	Jakarta
6	Pasar F	Bogor
7	Swalayan A	Bogor
8	Swalayan B	Bogor
9	Swalayan C	Jakarta
10	Swalayan D	Bogor
11	Swalayan E	Depok
12	Swalayan F	Bogor

Bahan Dan Cara

Bahan

Sampel : Daging ayam broiler

Sampel diambil dari pasar swalayan dan pasar tradisional yang berada di wilayah Bogor, Jakarta, Sukabumi dan Cibinong. Jumlah yang disampling adalah 12 tempat. Dari tiap tempat diambil sampel 1 ekor ayam (lihat tabel 1).

Bahan Baku Pembanding

Spiramisin baku Sigma No.S9132

Bahan Pereaksi

Asetonitril p.a, asetonitril untuk KCKT, isooktan p.a, metanol p.a, metanol untuk KCKT, larutan 0,1 M amonium asetat dalam metanol, larutan 0,2 M dikalium hidrogen fosfat, asam fosfat.

Peralatan

Alat-alat gelas, timbangan analitik, sonikator Sonicor/SC.52-TH, blender, alat sentrifuga Beckman model TJ-6, tabung plastik propilen, kolom μ Bondapak C-18, mikropipet Socorex, pH- indikator universal, syringe 25 μ L, 50 μ L dan 100 μ L, Vortex Heidolph REAX 2000, Seppak C-18 Waters.

Cara Penelitian

- Penyiapan larutan baku pembanding
Ditimbang sejumlah baku pembanding spiramisin, dilarutkan secara bertingkat dengan metanol hingga diperoleh kadar yang ditentukan.
- Penyiapan uji kesesuaian sistem
Lakukan penyuntikan ulang lima kali larutan 10 μ g/mL masing-masing sebanyak 20 μ L ke dalam alat KCKT. Dari hasil kromatogram hitung nilai simpangan baku dan simpangan baku relatif.
- Penyiapan uji penetapan batas deteksi
Lakukan penyuntikan 20 μ L larutan 0,2 μ g/mL; 0,1 μ g/mL; 0,05 μ g/mL dan 0,02 μ g/mL ke dalam alat KCKT
- Penyiapan uji linearitas
Lakukan penyuntikan 20 μ L larutan 0,5 μ g/mL; 1 μ g/mL; 2 μ g/mL; 5 μ g/mL dan 10 μ g/mL ke dalam alat KCKT. Buat grafik hubungan antara luas puncak dan konsentrasi larutan baku.
- Penyiapan larutan uji

Timbang lebih kurang 5 gram daging ayam yang telah diblender, masukkan kedalam tabung plastik propilen.

Sari 3 kali, setiap kali dengan 10 mL asetonitril p.a dengan menggunakan sonikator selama 10 menit. Tambahkan 10 mL isooktan ke dalam sari asetonitril tadi, kocok menggunakan vortex dengan kecepatan rendah, lakukan sebanyak 3 kali. Masukkan ke dalam alat sentrifuge dan sentrifuge 4000 rpm selama 15 menit.

Buang lapisan atas (isooktan). Ambil lapisan bawah dan masukkan ke dalam labu tentukur 50-mL dan diencerkan dengan air hingga tanda dan homogenkan.

Murnikan larutan uji dengan menggunakan kolom C-18 yang dicuci terlebih dahulu dengan 10 mL metanol dan 10 mL air. Setelah dicuci dengan air jangan biarkan kolom C-18 kering, masukkan 50 mL larutan uji dan alirkan perlahan-lahan melalui kolom C-18 dengan kecepatan tidak lebih dari 2 tetes/detik. Cuci kolom C-18 dengan menggunakan 10 mL air, diamkan selama 2 menit.

Elusi dengan 1,5 mL ammonium asetat-metanol 0,1 M dan 1,5 mL dan dikalium hidrogen fosfat 0,2 M. Hasil elusi ditampung ke dalam vial kemudian diuapkan hingga kering.⁸

- Penyiapan susut pengeringan
Zat uji ditimbang di dalam botol timbang sebanyak 1-2 gram, kemudian di masukkan dalam oven bersuhu 105° selama 24 jam. Setelah kering contoh ditimbang lagi sampai diperoleh bobot konstan.
- Penyiapan larutan *Spiked Sampel*
Sejumlah sampel yang sama dengan yang digunakan dalam larutan uji, ditambah baku pembanding spiramisin masing-masing dengan konsentrasi 0,5 μ g/mL, 1 μ g/mL dan 2 μ g/mL, selain itu juga dilakukan uji blangko tanpa penambahan larutan baku. Langkah berikutnya sama seperti metode penetapan kadar residu spiramisin pada zat uji.
- Penetapan Kadar
Larutan uji yang telah dikeringkan tadi dilarutkan dengan 500 μ L metanol untuk Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Suntikkan larutan uji sebanyak 20 μ L ke dalam alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, dengan kondisi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi sebagai berikut :

Kolom : C-18 Bondapak

Detektor : UV
 Panjang gelombang: 232 nm
 Fase gerak : NaH₂PO₄ 0,01M:
 CH₃CN (75:25) pH 3
 Kecepatan alir : 1,5 mL/menit⁽⁸⁾

Penyuntikkan larutan uji dilakukan sebanyak 3 kali.

Data waktu retensi baku pembandingan spiramisin hasil uji kesesuaian sistem dapat dilihat pada Tabel 2, 3 dan 4.

- a. Spiramisin I (lihat tabel 2)
- b. Spiramisin II (lihat tabel 3)
- c. Spiramisin III (lihat tabel 4)

Berdasarkan hasil pengujian diperoleh nilai simpangan baku relatif spiramisin I adalah 0,5463%, spiramisin II adalah 0.3359% dan spiramisin III adalah 0.4934%. Nilai yang diperoleh memenuhi syarat nilai simpangan baku relatif $\leq 2,0\%$ berdasarkan persyaratan USP XXV. Dengan demikian metode KCKT dapat digunakan untuk penetapan kadar residu spiramisin dalam daging ayam.

Hasil dan Pembahasan

Untuk menentukan adanya residu spiramisin dalam contoh telah ditetapkan waktu retensi baku pembandingan spiramisin dengan menggunakan metode dan kondisi yang sama dengan yang digunakan untuk pengujian contoh yaitu dengan uji kesesuaian sistem.

Tabel 2. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Larutan Baku Spiramisin I

No	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Rata-rata	Simpangan Baku (SB)	Simpangan Baku Relatif (SBR)
1.	6.33	67238			
2.	6.33	67876			
3.	6.33	67532	67502,6	368,7370	0,5463%
4.	6.35	67836			
5.	6.35	67031			

Tabel 3. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Larutan Baku Spiramisin II

No	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Rata-rata	Simpangan Baku (SB)	Simpangan Baku Relatif (SBR)
1.	8.41	148313			
2.	8.41	148600			
3.	8.41	147328	148104,8	497,5364	0.3359%
4.	8.41	147923			
5.	8.42	148360			

Tabel 4. Hasil Uji Kesesuaian Sistem Larutan Baku Spiramisin III

No	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Rata-rata	Simpangan baku (SB)	Simpangan Baku Relatif (SBR)
1.	13.11	137005			
2.	13.09	136412			
3.	13.11	137328	136979,4	675,8950	0,4934%
4.	13.11	137902			
5.	13.11	136250			

Uji Linearitas

Penetapan kurva kalibrasi berdasarkan data kromatogram yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi baku spiramisin dengan luas area.

- a. Spiramisin I (lihat tabel 5)
- b. Spiramisin II (lihat tabel 6)
- c. Spiramisin III (lihat tabel 7)

Berdasarkan hasil pengujian kalibrasi metode KCKT diperoleh nilai koefisien korelasi pada 5 kali penyuntikan larutan spiramisin baku dengan konsentrasi berbeda yaitu spiramisin I sebesar 0,9996, spiramisin II sebesar 0,9996 dan spiramisin III sebesar 0,9994. Dengan demikian terdapat hubungan linier yang baik antara konsentrasi spiramisin baku dengan luas area, sehingga dinyatakan kondisi KCKT sangat baik digunakan dalam analisa penetapan kadar.

Tabel 5. Data Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Baku Spiramisin I dengan Luas Area

Konsentrasi (ppm)	Waktu Retensi (menit)	Luas Area
0.5	6.33	3061
1.0	6.33	7632
2.0	6.33	15008
5.0	6.34	34728
10.0	6.33	67238

A : 817,0049

B : 6680,1068

r : 0,9996

Tabel 6. Data Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Baku Spiramisin II dengan Luas Area

Konsentrasi (ppm)	Waktu Retensi (menit)	Luas Area
0.5	8.41	5932
1.0	8.42	14797
2.0	8.41	25087
5.0	8.42	73691
10.0	8.41	148313

A : 2031,0744

B : 15025,6958

r : 0,9996

Tabel 7. Data Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Baku Spiramisin III dengan Luas Area

Konsentrasi (ppm)	Waktu Retensi (menit)	Luas Area
0.5	13.11	5005
1.0	13.11	10078
2.0	13.12	20998
5.0	13.12	64975
10.0	13.11	137005

A : 4395,8981

B : 14056,2427

r : 0,9994

Uji Batas Deteksi

Berdasarkan uji batas deteksi (lihat tabel 8) diketahui bahwa batas terkecil yang dapat terdeteksi oleh alat KCKT adalah 0,02 ppm. Hal ini berarti metode KCKT dapat digunakan untuk mendeteksi residu spiramisin dalam sampel daging ayam sampai konsentrasi tersebut.

Hasil Susut Pengerinan (lihat tabel 9)

Perolehan kembali baku pembandingan spiramisin untuk penambahan baku 100 µL 0,5 ppm adalah 99,33%, 100 µL 1,0 ppm adalah 103,99% dan 100 µL 2,0 ppm adalah 99,67%. Maka metode KCKT yang digunakan merupakan metode yang akurat dan teliti, di mana dapat ditunjukkan

Tabel 8. Hasil Uji Batas Deteksi

Konsentrasi (ppm)	Spiramisin I		Spiramisin II		Spiramisin III		Keterangan
	RT (menit)	Luas area	RT (menit)	Luas area	RT (menit)	Luas area	
0.2	6.33	1013	8.41	1632	13.09	1201	Terdeteksi
0.1	6.33	518	8.42	821	13.11	693	Terdeteksi
0.05	6.31	261	8.42	408	13.11	352	Terdeteksi
0.02	6.33	138	8.41	193	13.09	171	Terdeteksi
0.01	-	-	-	-	-	-	Tdk Terdeteksi

Tabel 9. Data Susut Pengerinan

No	Asal Pasar	Bobot (g)		Susut Pengerinan (%)
		Sebelum dikeringkan	Setelah dikeringkan	
1.	Pasar A, Bogor	1.0593	0.2264	78.63
2.	Pasar B., Bogor	1.0682	0.2237	79.06
3.	Pasar C, Sukabumi	1.0712	0.2253	78.97
4.	Pasar D, Cibinong	1.0042	0.2126	78.83
5.	Pasar E, Jakarta	1.0626	0.2277	78.57
6.	Pasar F, Bogor	1.0637	0.2237	78.97
7.	Swalayan A, Bogor	1.0769	0.2261	79.00
8.	Swalayan B, Bogor	1.0481	0.2204	78.97
9.	Swalayan C, Jakarta	1.0788	0.2268	78.98
10.	Swalayan D, Bogor	1.0586	0.2231	78.93
11.	Swalayan E, Depok	1.0736	0.2248	79.06
12.	Swalayan F, Bogor	1.0831	0.2281	78.94

dengan hasil perolehan kembali yang memenuhi persyaratan validasi metode analisis yaitu 80%-110%. Data hasil perolehan kembali spiramisin dapat dilihat pada tabel 10.

Hasil analisis residu spiramisin dalam daging ayam yang disampling dari pasar swalayan dan pasar tradisional yang ada di wilayah Jakarta, Bogor, Cibinong dan Sukabumi dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 10. Hasil Uji Perolehan Kembali

Bobot kering (gram)	Penambahan baku	Kadar blangko (ppm)	Kadar awal (ppm)	Kadar yang diperoleh (ppm)	Perolehan kembali (%)	Rata-rata (%)
1,1039	100 µL 0.5 ppm		0,045294	0,094805	98.64	99.33
				0,094459	97.88	
				0,096091	101.48	
1,1041	100 µL 1.0 ppm	0,050127	0,090572	0,145562	101.65	103.99
				0,144731	104.45	
				0,146025	105.88	
1,0995	100 µl 2.0 ppm		0,181901	0,232551	100.29	99.67
				0,229663	98,70	
				0,232091	100.03	

Tabel 11. Hasil Kadar Residu Spiramisin dalam Daging Ayam

No	Asal zat uji	Kadar Rata-rata (ppm)
1	Pasar A, Bogor	0.050057
2	Pasar B., Bogor	0.049671
3	Pasar C, Sukabumi	0.038921
4	Pasar D, Cibinong	0,046902
5	Pasar E, Jakarta	0.029506
6	Pasar F, Bogor	-
7	Swalayan A, Bogor	0.046065
8	Swalayan B, Bogor	-
9	Swalayan C, Jakarta	0.027283
10	Swalayan D, Bogor	0.044055
11	Swalayan E, Depok	-
12	Swalayan F, Bogor	0.04987

Batas maksimum residu antibiotika spiramisin dalam daging ayam menurut SNI adalah 0,05 ppm, berdasarkan ketentuan tersebut dari seluruh contoh daging ayam yang diuji residu spiramisinnya tidak ada yang melewati batas maksimum residu. Tetapi hampir seluruh contoh daging ayam yang diuji mengandung residu spiramisin. Hal ini dapat disebabkan karena peternak tidak memperhatikan waktu potong hewan dan waktu henti obat, padahal sebelumnya telah dilakukan penyuluhan. Khusus untuk waktu henti obat atau *withdrawal time* harus diketahui oleh peternak, karena apabila waktu henti obatnya belum terlampaui maka ternak tersebut tidak boleh dikonsumsi karena adanya residu obat dalam ternak yang dapat merugikan kesehatan konsumen, seperti dapat menyebabkan resistensi. Waktu henti spiramisin yaitu 7 hari setelah pemberian obat terakhir. Alasan ekonomis sering menjadi penyebab waktu henti obat yang tidak dipatuhi, misalnya apabila ayam yang sedang dalam masa pengobatan telah mencapai waktu panen tetapi waktu hentinya belum terlampaui maka apabila ayam tersebut tidak dipotong maka kemungkinan besar akan mati dan peternak mengalami kerugian besar. Selain itu juga dapat disebabkan karena minimnya informasi dan pengetahuan para peternak tentang waktu henti obat dan bahaya yang dapat ditimbulkan akibat dari residu obat dalam produk ternak bagi para konsumen.

Kesimpulan

Residu antibiotika spiramisin ditemukan dalam daging ayam yang disampling dari pasar swalayan dan pasar tradisional yang berada di wilayah Jakarta, Bogor, Cibinong dan Sukabumi. Batas maksimum residu antibiotika dalam produk ternak menurut SNI No: 01-6366-2000 adalah 0,05 ppm. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada contoh daging ayam yang kandungan residu spiramisinnya melebihi batas maksimum yang terdapat dalam SNI.

Saran

Perlu dilakukan penyuluhan lebih lanjut kepada peternak tentang waktu henti obat, cara penggunaan antibiotik yang benar dan bahaya yang dapat ditimbulkan dengan adanya residu pada produk ternak apabila dikonsumsi oleh konsumen.

Daftar Pustaka

1. Wiryosuhanto S. Tinjauan Penggunaan Antibiotika di Indonesia saat ini dan yang akan datang dalam Kumpulan Makalah Seminar Penggunaan Antibiotika dalam Bidang Kedokteran Hewan. Jakarta. 1990. hal.1-10.
2. Murdiati TB. Pemakaian obat hewan dan residu yang ditimbulkan dalam produk peternakan dalam Prosiding Kongres Himpunan Toksikologi Indonesia, Jakarta. 2000. hal 86-89.
3. Livingstone R. Antibiotic Residues in Animals-Derived Food. J.Assoc. Off.Anal. Chem. 1985. (68): 966,967.
4. Departemen Pertanian Sistem Penyebaran Obat Hewan di DKI dan Jawa Barat. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 1993. hal 71-72
5. Alexander F. An Introduction to Veterinary Pharmacology. Fourth edition. London: Langmar; 1985. p 68-69
6. Glasby S John. Encyclopaedia of Antibiotics. 2nd edition. Chicester: John Wiley and Sons Inc.; 1979. p 411-12
7. Batas maksimum cemaran mikroba dan batas maksimum residu dalam bahan makanan asal hewan. Dalam: Standar Nasional Indonesia No.:01-6366-2000. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional: 2000. Tabel 4.
8. Juhel-Gaugain, Murielle. Multiresidues Chromatographic Method for the Determination of Macrolide Residues in Muscle by High-Performance Liquid Chromatographic with UV Detection. Jurnal of AOAC International. 1999. 82(5): 1046-53.