

## INTISARI

### **VALIDASI METODE ANALISIS CAMPURAN TETRASIKLIN DAN OKSITETRASIKLIN DENGAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) SEBAGAI LANGKAH AWAL DETEKSI RESIDU DALAM PANGAN ASAL IKAN**

**Penggunaan Kolom C<sub>18</sub>; Fase Gerak Campuran Asetonitril:Asam Oksalat: Metanol (15:80:5); Laju Alir 1 ml/menit; Suhu 30°C; Panjang Gelombang Detektor UV-Vis 368 nm; dan Pelarut *Buffer McIlvaine***

Tetrasiklin dan oksitetrasiklin merupakan antibiotik yang dalam akuakultur digunakan sebagai profilaksis dan metafilaksis dalam pengendalian penyakit. Pemakaian antibiotik tidak tepat menyebabkan residu pada ternak yang berbahaya bagi manusia yang mengonsumsi. Salah satu cara mendeteksi residu tetrasiklin dan oksitetrasiklin pada produk ternak dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Penelitian bertujuan untuk validasi metode analisis campuran tetrasiklin dan oksitetrasiklin menggunakan KCKT.

Validasi metode analisis menggunakan KCKT Shimadzu versi 6.1, kolom C<sub>18</sub> 150 mm x 4,6 mm suhu 30°C, kecepatan laju alir 1 ml/menit, dan detektor UV-Vis panjang gelombang 368 nm. Fase gerak campuran asetonitril, asam oksalat dalam akuabides *proinjection*, dan metanol dengan perbandingan 15:80:5. Parameter yang digunakan yaitu spesifisitas, akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi, dan batas kuantifikasi.

Hasil penelitian pada konsentrasi tetrasiklin dan oksitetrasiklin 0,75 µg/ml; 0,5 µg/ml; 0,25 µg/ml; 0,1 µg/ml; dan 0,05 µg/ml menunjukkan rerata luas area tetrasiklin berturut-turut adalah 29590,33; 27493,33; 12377,33; 5174,67; dan 2813; dan rerata luas area oksitetrasiklin berurut-turut adalah 22238,33; 18392; 10278,67; 5821,667; dan 4920 dengan waktu retensi antara menit ke-3,6 sampai menit ke-4,5 untuk tetrasiklin dan menit ke-2,8 sampai menit ke-3,6 untuk oksitetrasiklin. Nilai akurasi berada di luar kisaran 80%-120% pada tetrasiklin. Keterulangan dilakukan tiga kali dengan rata-rata nilai RSD ≤ 2%. Persamaan garis linear tetrasiklin yang diperoleh  $y = 41206x + 1891,6$  dengan nilai  $r = 0,97$ . Persamaan garis linear oksitetrasiklin yang diperoleh  $y = 26029x + 3740,6$  dengan nilai  $r = 0,99$ . Batas deteksi 0,20 µg/ml untuk tetrasiklin dan 0,10 µg/ml untuk oksitetrasiklin. Batas kuantifikasi 0,66 µg/ml untuk tetrasiklin dan 0,34 µg/ml untuk oksitetrasiklin. Metode yang ditetapkan memiliki validitas yang baik untuk tetrasiklin (dinilai dari parameter spesifisitas, presisi, dan linearitas) dan oksitetrasiklin (dinilai dari parameter spesifisitas, presisi, linearitas, dan akurasi). Batas deteksi dan batas kuantifikasi keduanya memiliki validitas yang kurang baik.

Kata kunci : KCKT, validasi, tetrasiklin, oksitetrasiklin

## ABSTRACT

### VALIDATION OF ANALYSIS METHOD OF TETRACYCLINE AND OXYTETRACYCLINE USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY AS PRIOR STEP FOR RESIDUAL DETECTION IN FOOD OF FISH ORIGIN

**Column of C<sub>18</sub>; Mobile Phase of Acetonitrile:Oxalic Acid:Methanol (15:80:5); Flow Rate 1 ml/minute; Temperature of Column 30°C; Detector Wave Length of UV-Vis 368 nm; and Buffer McIlvaine Solvent**

Tetracycline and oxytetracycline is an antibiotic used as prophylaxis and metaphylaxis in aquaculture for disease control. Inappropriate use of antibiotics can cause accumulation of residues in livestock that are harmful to humans who consume it. High performance liquid chromatography (HPLC) can be used to detect tetracycline and oxytetracycline residues in livestock product. This study aimed to validate the analysis methods of detecting tetracycline and oxytetracycline residues using HPLC.

Validation of analysis method was done using HPLC Shimadzu version 6.1, column of C<sub>18</sub> sized 150 mm x 4.6 mm temperature 30°C, flow rate of 1 ml/min, with UV-Vis detector wavelength of 368 nm. The mobile phase was made of acetonitrile, oxalic acid diluted in aquabides proinjection, and methanol with a ratio of 15:80:5. The parameters used were specificity, accuracy, precision, linearity, limits of detection, and limits of quantification.

The results of the research on concentration of tetracycline and oxytetracycline 0.75 µg/ml; 0.5 µg/ml; 0.25 µg/ml; 0.1 µg/ml; and 0.05 µg/ml showed that the average area of tetracycline were 29590.33; 27493.33; 12377.33; 5174.67; and 2813; and the average area of oxytetracycline were 22238.33; 18392; 10278.67; 5821.667; and 4920 with retention time between minute 3,6 to minute 4,5 for tetracycline and minute 2,8 to minute 3,6 for oxytetracycline. Accuracy values were beyond the range of 80%-120% in tetracycline. Repeatability was done three times with the average RSD both were ≤ 2%. Equation of linear line tetracycline obtained was  $y = 41206x + 1891,6$  with value  $r = 0,97$ . Equation of linear oxytetracycline obtained was  $y = 26029x + 3740,6$  with value  $r = 0,99$ . The limit of detection was 0.20 µg/ml for tetracycline and 0.10 µg/ml for oxytetracycline. The limit of quantification was 0.66 µg/ml for tetracycline and 0.34 µg/ml for oxytetracycline. The method developed in the research has good validity for tetracycline (based on spesificity, precision, and linearity parameters) and oxytetracycline (based on spesificity, precision, linearity, and accuracy parameters). Limit of detection and limit of quantification have not good enough validity for both.

Keywords: HPLC, validation, tetracycline, oxytetracycline