

**Penggunaan Kolom C<sub>18</sub> ukuran 150x4,6 mm, Suhu 40<sup>0</sup> Celcius, Detektor UV-Vis ( $\lambda=355$  nm), dengan Fase Gerak Campuran dari Metanol, Asetonitril, dan Asam Oksalat Perbandingan 80:4:16, dan Laju Alir Fase Gerak 1 ml/menit**

Penggunaan antibiotik pada produk hewan berpotensi meninggalkan residu dan menimbulkan dampak buruk bagi manusia. Tetrasiklin adalah salah satu antibiotik yang dipilih untuk infeksi bermacam bakteri. Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) banyak dipilih untuk menentukan residu tetrasiklin karena dapat memisahkan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Alat ini juga dapat mengidentifikasi secara kualitatif dan kuantitatif bahan dalam jumlah yang kecil. Penelitian bertujuan untuk melakukan validasi metode dan mengembangkan metode yang telah ada dalam analisis tetrasiklin sebagai senyawa yang berpotensi menjadi residu dalam produk hewan menggunakan KCKT.

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah KCKT Shimadzu 6.1 dengan sistem kontrol SCL-10 A VP, detektor UV-Vis SPD10AVVP, pompa LC-10AD VP, *degasser* DGU-14A, oven CTO-10AC VP, dan kolom C<sub>18</sub> merek Shim-pack ukuran 150x4,6 mm. Penelitian menggunakan suhu 40<sup>0</sup> Celcius dengan fase gerak metanol, asetonitril, dan asam oksalat dengan perbandingan 80: 4: 16, dan laju alir fase gerak 1 ml/menit. Penelitian ini menggunakan tetrasiklin murni dengan konsentrasi 1 µg/ml; 0,75 µg/ml; 0,5 µg/ml; 0,25 µg/ml; 0,1 µg/ml; dan 0,075 µg/ml.

Parameter validasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesifisitas, presisi, akurasi, batas deteksi, batas kuantifikasi, dan linearitas. Hasil penelitian menunjukkan area puncak tetrasiklin pada analisis KCKT secara spesifik muncul pada menit ke-1,9 sampai menit ke-2. Rerata luas area masing-masing konsentrasi dari 1 µg/ml; 0,75 µg/ml; 0,5 µg/ml; 0,25 µg/ml; 0,1 µg/ml; dan 0,075 µg/ml secara berturut-turut yaitu 108.401,7; 82.247,67; 70.486,33; 32.368,67; 24.401,33; dan 20.211,67. Spesifisitas masing-masing konsentrasi menunjukkan hasil yang baik karena area puncak tetrasiklin tidak terganggu zat-zat lain. Presisi menunjukkan nilai yang baik karena hasil standart deviasi relatif  $\leq 2\%$ . Nilai akurasi masing-masing konsentrasi memenuhi standar yaitu 80-120%. Persamaan garis linear  $y = 95463x + 13792$  dengan  $r = 0,99$ . Batas deteksi instrumen memiliki nilai 0,54 µg/ml dan batas kuantifikasi memiliki nilai 2,95 µg/ml. Kesimpulan dari prosedur analisis yang digunakan memiliki validitas yang baik berdasarkan parameter spesifisitas, presisi, akurasi, linearitas, namun kurang baik jika ditinjau dari parameter batas deteksi dan batas kuantifikasi.

Kata kunci: tetrasiklin, kromatografi cair kinerja tinggi, validasi.

## ABSTRACT

### VALIDATION OF TETRASIKLIN ANALYSIS METHOD AS POTENTIAL RESIDUAL MATERIALS ON ANIMAL PRODUCTS USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

**Usage of Column C18 size 150x4,6 cm, Temperature 40<sup>0</sup> Celsius  
Detector UV-Vis ( $\lambda=355$  nm), with Mobile Phase Composite of  
Methanol, Acetonitrile, and Oksalat Acid Comparison 80: 4: 16, Mobile  
Phase Flow Rate 1 ml/minute**

The use of antibiotics in animal products has the potential to leave residues and have adverse effects on humans. Tetracycline is one of the antibiotics selected for treating various bacteria infection. High performance liquid chromatography (HPLC) is widely selected to determine tetracycline residues because it can separate with high speed and efficiency. This tool can also identify qualitatively and quantitatively the small amount of material. This study aims to validate and develop existing methods in the analysis of tetracyclines as potential compounds to be residues in animal products using HPLC.

The main tools used in this research were HPLC Shimadzu 6.1 with SCL-10 A VP control system, SPD10AVVP UV-Vis detector, LC-10AD VP pump, DGU-14A degasser, CTO-10AC VP oven, and C18 brand Shim-pack size

150x4,6 mm. This research used 40<sup>0</sup> Celsius temperature with methanol, acetonitrile, and oxalic acid phase in the ratio of 80: 4: 16, and the flow rate of 1 ml/min. This study used a sample with concentration of 1  $\mu\text{g/ml}$ ; 0.75  $\mu\text{g/ml}$ ; 0.5  $\mu\text{g/ml}$ ; 0.25  $\mu\text{g/ml}$ ; 0.1  $\mu\text{g/ml}$ ; and 0.075  $\mu\text{g/ml}$ .

Validation parameters used in this study were specificity, precision, accuracy, limit of detection, limit of quantification, and linearity. The results showed that the peak area of tetracycline in the HPLC analysis specifically appeared in minutes 1,9 to 2 minutes. Average area of each concentration of 1  $\mu\text{g/ml}$ ; 0,75  $\mu\text{g/ml}$ ; 0,5  $\mu\text{g/ml}$ ; 0,25  $\mu\text{g/ml}$ ; 0,1  $\mu\text{g/ml}$ ; and 0,075  $\mu\text{g/ml}$  respectively were 108,401,7; 82.247,67; 70486.33; 32.368,67; 24.401,33; and 20.211,67. The specificity of each concentration shows good results because the peak area of tetracycline not disturbed by other substances. Precision shows good value due to RSD result  $\leq 2$  was Accuracy value of each concentration meet the standard that was 80-120%. Linear line equation  $y = 95463x + 13792$  with were R

$= 0,99$ . The instrument detection limit has a value of 0,54  $\mu\text{g/ml}$  and the quantification limit has a value of 2,95  $\mu\text{g/ml}$ . The conclusions of the analytical procedures used have good validity based on parameters of specificity, precision, accuracy, linearity, but were not favorable in terms of detection limit parameters and quantification limits.

Keywords: tetracycline, high performance liquid chromatography, validation.