

PEMERIKSAAN RESIDU ANTIBIOTIK PADA HATI KERBAU DAN IKAN NILA DENGAN METODA DIFUSI AGAR

MUSYIRNA RAHMAH NST¹⁾, RAHAYU UTAMI²⁾ DAN NUR RAHMADHANI FITRI³⁾

Fakultas Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau Jl.Kamboja Simpang Baru Panam

1,2) Dosen Fakultas Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau (STIFAR),

email : musyirnarahmah@yahoo.com

3) Alumni STIFAR

ABSTRACT

This study was aimed to identify antibiotic residue on buffalo liver (Bubalus bubalis) dan nila fish (Oreochromis niloticus). Detection of antibiotic residu was used antibacterial assay by diffusion methode. The result indicated that some of samples at concentration 25% contained antibiotic residue with inhibited growth rate Escherichia coli 12,3 mm.

Keywords: buffalo liver, nila fish, diffusion method, antibiotic residue

PENDAHULUAN

Makanan adalah suatu kebutuhan bagi kehidupan. Tubuh manusia membutuhkan makanan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan penggantian jaringan. Makanan juga menyediakan bahan untuk mengatur reaksi-reaksi yang berlangsung selama proses di dalam tubuh. Makanan terdiri dari berbagai komponen nutrisi seperti karbohidrat, lemak, protein, vitamin, mineral yang dibutuhkan oleh tubuh (Gaman dan Sherrington, 1994).

Bahan pangan merupakan kebutuhan pokok manusia untuk hidup, di samping pangan nabati manusia juga memerlukan pangan hewani sebagai sumber protein, seperti daging, susu, telur, ikan. Telur merupakan salah satu produk hewani yang digunakan sebagai sumber protein, lemak dan vitamin yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Telur mengandung struktur yang mengandung zat gizi, telur terdiri dari kulit telur, putih telur, dan kuning telur (Buckle dkk, 1985).

Pada saat ini banyak peternak menggunakan antibiotik untuk pengobatan yang umumnya ditambahkan dalam pakan sebagai imbuhan. Pengobatan dengan antibiotik pada ternak diharapkan dapat

mengurangi resiko kematian, menghambat penyebaran penyakit ke ternak lainnya ataupun ke manusia. Pemberian antibiotik diharapkan terjadinya penyembuhan yang cepat, sehingga ternak dapat segera kembali berproduksi secara optimal, akibatnya kerugian ekonomi yang lebih besar dapat dihindari. Pemberian antibiotik dalam imbuhan juga diharapkan akan mengurangi biaya produksi, sehingga diharapkan dapat meningkatkan keuntungan (Fussel, 1981). Antibiotik yang sering digunakan pada ternak antara lain golongan Penisilin (Penisilin G, Kalium Penisilin G), golongan tetrasiklin (tetrasiklin, Klortetrasiklin), golongan Aminoglikosida (Gentamisin Sulfat, Neomisin) dan golongan Makrolida (Eritromisina), Kloramfenikol. Apabila antibiotik ini digunakan melebihi batas akan menyebabkan residu antibiotik (Lastari dan Murad, 2007).

Efek residu antibiotik dalam pangan peternakan mulanya kurang mendapatkan perhatian. Hal ini dapat dimengerti karena umumnya konsentrasi residu sangat rendah, sehingga efek yang ditimbulkan tidak akan terlihat langsung, gejala klinis yang ditimbulkan ada kalanya tidak nyata. Akan tetapi konsumsi yang terus menerus dalam dosis kecil akan membahayakan kesehatan manusia, hal ini dapat terjadi

pada orang yang setiap hari mengkonsumsi pangan peternakan seperti susu, telur, ikan dan daging. Residu antibiotik dapat menyebabkan terjadinya reaksi alergi dan resistensi (Schlatter, 1990).

Beberapa kasus yang terjadi pada pangan hewani dalam penggunaan antibiotik secara bebas yang dapat menyebabkan residu, seperti : residu antibiotik dalam air susu sapi dan peternakan di Jakarta (Lastari dan Murad, 2007) dan residu antibiotik pada hati dan ginjal ayam petelur akhir pada peternakan ayam di Kabupaten Ponorogo. Dari kasus-kasus yang terjadi pada pangan hewani, penulis tertarik untuk mengidentifikasi residu antibiotik secara mikrobiologis pada ikan nila dan hati kerbau.

MATERI DAN METODA

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan dan hati kerbau dari peternakan yang diambil secara acak sebanyak 3 kecamatan yang mewakili daerah Kabupaten Kampar. Sampel diambil sebanyak 3 kali pengulangan dari peternakan yang terpilih secara acak.
2. Metoda yang digunakan adalah Metoda Difusi Agar (Boisseau, and Aziz, 1995)
3. Alat dan bahan
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, kertas cakram, pipet ukur, tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, autoklaf, centrifuse, jarum ose, oven, lampu bunsen, kertas saring, kain kasa, benang jagung, kertas koran, spatel dan corong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pangan hewani berupa hati kerbau dan ikan nila yang digunakan sebagai bahan uji dengan

konsentrasi 25%. Media yang digunakan berupa NA dan pelarut berupa diklorometan. *Escherichia coli* merupakan bakteri penguji dalam identifikasi residu antibiotik. Kloramfenikol sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 0,3%.

4. Prosedur Penelitian

4.1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Alat-alat yang terbuat dari gelas (tabung reaksi, erlenmeyer dan pipet ukur) ditutup mulutnya dengan kapas kemudian dibungkus dengan kertas koran, kertas cakram dimasukkan ke dalam salah satu cawan petri dan semua cawan petri dibungkus dengan kertas koran. Semua alat disterilkan menggunakan oven pada suhu 160 °C selama 2 jam. Medium NA dan aquadest yang terdapat di dalam erlenmeyer disumbat dengan menggunakan kapas, disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara pemijaran langsung di atas nyala api setiap kali pemakaian.

4.2. Penyiapan Media Dasar

Media dasar disiapkan dengan cara menimbang media Nutrien Agar (NA) sebanyak 23 gram, dilarutkan dalam 1.000 ml air suling dalam erlenmeyer dan dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai mendidih dan larut sempurna. Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

4.3. Penyiapan Bakteri Uji

Escherichia coli dari kultur persediaan diremajakan, dengan cara memindahkan 1 atau 2 ose yang ditanam pada media NA, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi

Pemeriksaan Residu Antibiotika pada Hati Kerbau dan Ikan Nila dengan Metoda Difusi

dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

4.4. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

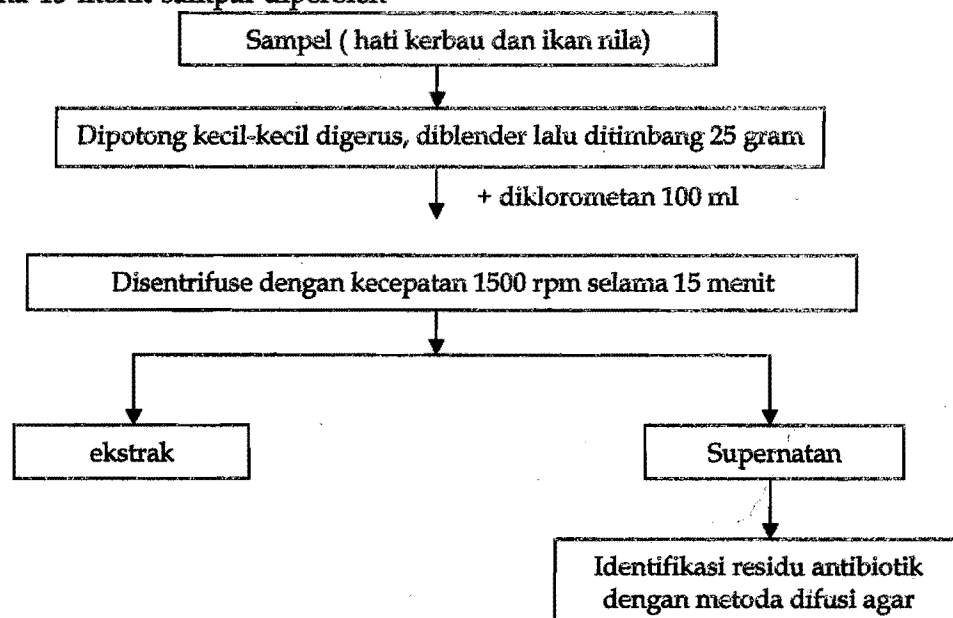
Mikroba uji yang telah diremajakan digoreskan sebanyak 3-4 goresan kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi aquadest steril. Kemudian dihomogenkan dengan cara divorteks. Kekeruhan dari suspensi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis sehingga diperoleh suspensi dengan transmittansi 25% pada panjang gelombang 580 nm.

4.5 Identifikasi Residu dengan Metoda Difusi Agar

Sampel (hati kerbau dan ikan nila) dipotong kecil-kecil, kemudian digerus sampai halus dan diblender lalu ditimbang sebanyak 25 gram dan ditambahkan pelarut diklorometan sebanyak 100 ml. Kemudian disentrifuse dengan kecepatan 1.500 rpm selama 15 menit sampai diperoleh

supernatan yang jernih. Supernatan yang terbentuk diambil.

Inokulasi suspensi bakteri dipipet 0,1 ml dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah steril dan telah diberi tanda. Media NA yang telah dicairkan dan didinginkan dituang ke dalam cawan petri, cawan petri diputar secara perlahan agar media tercampur rata dengan suspensi bakteri. Kertas cakram yang telah diteteskan dengan sampel sebanyak 0,01 ml dengan menggunakan pinset lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media dan bakteri. Inkubasi pada suhu kamar selama 48 jam dan amati diameter daerah hambatan yang terbentuk (lihat Gambar 2).



Gambar 2. Diagram alir pelaksanaan penelitian

5. Analisis data

Data yang disajikan dalam bentuk tabel dan gambar berupa diameter daerah hambat. Jika daerah hambat lebih besar dari 10 mm, maka dapat diduga terdapat residu antibiotik pada sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada kontrol positif digunakan kloramfenikol, dimana kloramfenikol ini merupakan antibiotik berspektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Setiabudi dan Kurnadi,1995). Penggunaan kontrol positif adalah sebagai pembanding diameter daerah hambat. Antibiotik ini memiliki daerah hambat yang luas yaitu lebih dari 20 mm. Pemilihan pelarut diklorometan pada ekstraksi sampel dikarenakan pelarut ini dapat menarik antibiotik dengan sempurna walaupun dalam keadaan terikat dengan protein dan memiliki titik didih yang rendah yaitu 40°C. Penggunaan kontrol negatif dengan pelarut ekstraksi ini bertujuan untuk mengeliminasi pengaruh pelarut terhadap pembentukan daerah bening disekitar cakram dengan diameter daerah hambat 0 Untuk itu, kertas cakram harus dikeringanginkan terlebih dahulu sebelum diletakan diatas media uji.

Residu antibiotik diidentifikasi secara mikrobiologis berdasarkan diameter daerah hambat yang diberikan oleh antibiotik yang terdapat di dalam sampel terhadap bakteri. Antibiotik yang terekstraksi akan berdifusi melalui kertas cakram ke media yang telah ditanamkan bakteri.

Hasil pada masing-masing waktu pengambilan menunjukkan bahwa sebagian besar sampel mengandung residu antibiotik dengan kategori lemah yaitu diameter rata-rata 12,3 mm. Menurut Greewood, klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri yang memiliki diameter zona terang

lebih dari 20 mm maka respon hambat pertumbuhan dikategorikan kuat, diameter zona terang 16-20 mm dikategorikan sedang, diameter zona terang 10-15 mm dikategorikan lemah dan diameter zona terang 0 dikategorikan tidak ada respon hambat pertumbuhan.

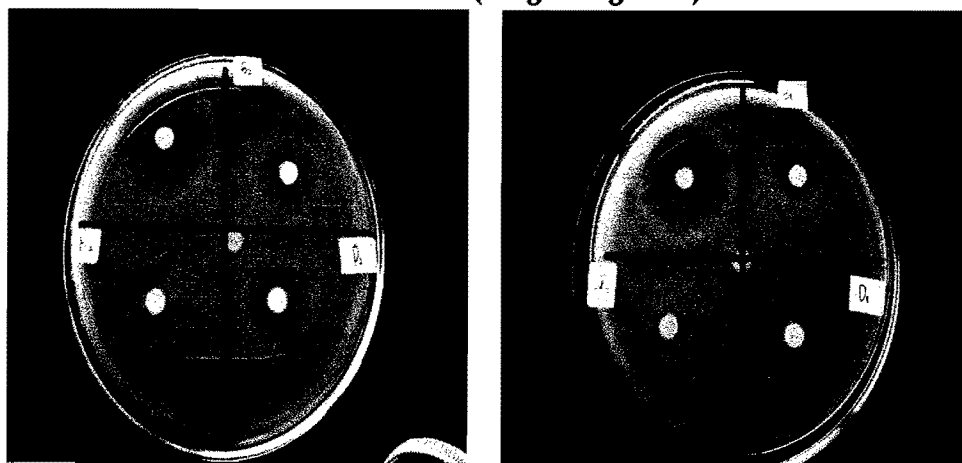
Pada pengambilan sampel pertama, hanya sampel hati kerbau dari kecamatan Bangkinang Barat (Kuok) memberikan diameter daerah hambat sebesar 15,3 mm. Sedangkan sampel ikan nila yang diambil dari kecamatan Bangkinang dan Bangkinang Barat (Kuok) yang memberikan diameter daerah hambat sebesar 9,0 mm dan 9,3 mm. Pada pengambilan sampel kedua, sampel hati kerbau dari kecamatan Bangkinang dan Bangkinang Barat (Kuok) memberikan diameter daerah hambat sebesar 14,2 mm dan 8,8 mm. Sedangkan sampel ikan nila pada semua kecamatan memberikan diameter daerah hambat sebesar 15,5 mm, 14,8 mm dan 11,7 mm. Pada pengambilan sampel ketiga, sampel hati kerbau dari kecamatan Bangkinang dan Danau Binguang memberikan diameter daerah hambat sebesar 13,0 mm dan 9,3 mm. Sedangkan sampel ikan nila pada semua kecamatan memberikan diameter daerah hambat sebesar 14,8 mm, 14,1 mm dan 10,4 mm (lihat Tabel 1 dan Gambar 2).

Dalam identifikasi residu antibiotik dalam sampel hati kerbau dan ikan nila hampir sebagian besar dari sampel menghasilkan residu antibiotik dengan adanya diameter daerah hambat yang terbentuk pada sampel. Ini dikarenakan para peternak memberikan antibiotik pada ternak bertujuan untuk pengobatan, mengurangi resiko kematian dan menghambat penyebaran penyakit ke ternak lainnya.

Tabel 1. Diameter daerah Hambat Residu Antibiotik Hati Kerbau dan Ikan Nila Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Jenis Sampel	Lokasi pengambilan	Rata-rata Diameter Daerah Hambat (mm)		
		Sampel	Kontrol positif	Kontrol negatif
Hati kerbau	B.1	0,00	22,6	0
	B.2	14,2	24,0	0
	B.3	13,0	26,0	0
	D.1	0,00	22,6	0
	D.2	0,00	24,0	0
	D.3	9,3	26,0	0
	K.1	15,3	22,6	0
	K.2	8,8	24,0	0
	K.3	0,00	26,0	0
Ikan Nila	B.1	9,0	26,6	0
	B.2	15,5	26,0	0
	B.3	14,8	26,3	0
	D.1	0,00	26,6	0
	D.2	14,8	26,0	0
	D.3	10,4	26,3	0
	K.1	9,3	26,6	0
	K.2	11,7	26,0	0
	K.3	14,1	26,3	0

Keterangan : B1 : Hati Kerbau Kecamatan Bangkinang
 D1 : Hati Kerbau Kecamatan Danau Bingkuang
 K1 : Hati Kerbau Kecamatan Kuok (Bangkinang Barat)
 B2 : Ikan Kecamatan Bangkinang
 D2 : Ikan Kecamatan Danau Bingkuang
 K2 : Ikan Kecamatan Kuok (Bangkinang Barat)



(a)

(b)

Gambar 2. Hasil Identifikasi Residu Antibiotik pada Hati Kerbau (a) dan Ikan nila (b) masing-masing pada konsentrasi 25% terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan waktu inkubasi 24 jam

KESIMPULAN

Penelitian pemeriksaan residu antibiotik terhadap hati kerbau dan ikan nila yang diambil dari beberapa kecamatan wilayah Kabupaten Kampar dapat disimpulkan bahwa hampir sebagian besar sampel mengandung residu antibiotik dengan diameter hambatan rata-rata 12,3 terhadap bakteri *Escherichia coli* dan dikategorikan lemah. Kepada peneliti selanjutnya disarankan untuk melanjutkan penelitian menentukan jenis antibiotik yang terdapat pada sampel dan penentuan kadarnya dengan menggunakan metoda HPLC pada pangan hewani lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Boisseau, J., and Aziz, 1995, "Technical Demonstration: *Microbiological Methods*, Workshop on Control of Veterinary Drug Residues in Foods", Malaysia.
- Bukle, K.A., dkk, 1985, *Ilmu Pangan*, terjemahan Purnomo dan Adiono, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Fussel, M.H., 1981, *Antibiotic as Growth Promoters*, AVI Symposium.
- Gaman, P.M., dan Sherington, K.B., 1994, *Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*, edisi II, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Greenwood, 1995. *Antibiotics susceptibility (Sensitivity) Test. Antimicrobial and chemoterap*. Skripsi: Moch Rachdie Pratama, Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) terhadap Pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan metoda difusi agar. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Lastari, P., dan Murad, 2007, "Residu Antibiotik dalam Air Susu Sapi dan Peternakan di Jakarta", Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, [Http: www.kalbe.co.id](http://www.kalbe.co.id), [18 Januari 2008].
- Schlatter, C. (1990). Toxicological assessment of xenobiotics in foods of animal origin. In *Residues of Veterinary Drugs in Food. Proceedings of the EuroResidue conference, Noordwijkerhout, The Netherlands, 1990: 65-75.*
- Setiabudy, R dan Kurnadi, L. 1995. *Tetrasiklin dan Kloramfenikol*. Dalam Ganiswara, S.G, et al, *Farmakologi dan terapi*, edisi 4. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta