

BAB IV

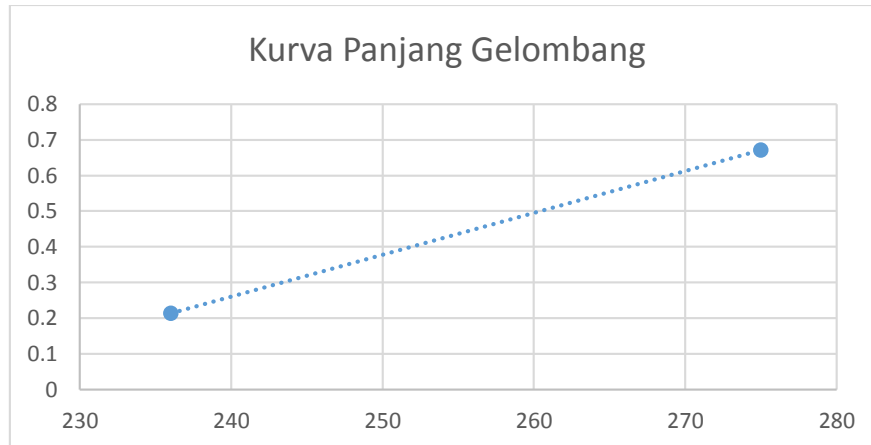
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Pengumpulan Sampel

Ikan lele diperoleh di Pasar Gede Kota Surakarta, Ikan lele diambil secara random terkendali. Sampel diambil pada bulan mei 2019.

2. Penentuan panjang gelombang dilakukan pada rentang 200-400 nm

Panjang gelombang serapan maksimum kloramfenikol dalam larutan air yaitu 278 nm (Dirjen POM, 1979). Selain itu pada panjang gelombang maksimal bentuk kurva absorbansi memenuhi syarat hukum Lambert-Beer dan absorban yang terbaca hendaknya antara 0,2 sampai 0,8. (Rohman, A. 2007).



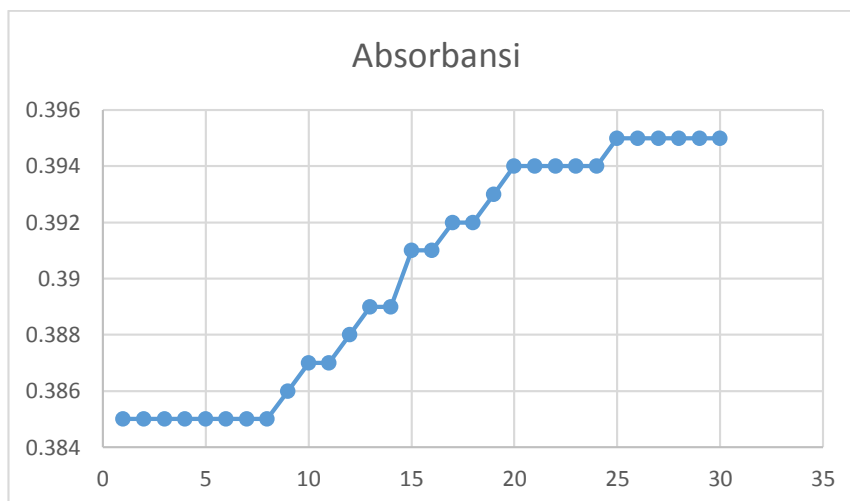
Gambar 4. Panjang Gelombang

Hasil penentuan panjang gelombang pada penelitian ini diukur pada konsentrasi 2,0 ppm discan pada panjang gelombang 200-400 nm dengan spektrofotometer UV memberikan serapan terbesar dan sama pada setiap konsentrasi sebesar 275 nm sedikit bergeser dari serapan maksimumnya

dikarenakan keberadaan metanol sebagai larutan baku yang digunakan. Hasil penentuan panjang gelombang dapat dilihat dari lampiran 2.

3. Penetapan *operating time* (OT)

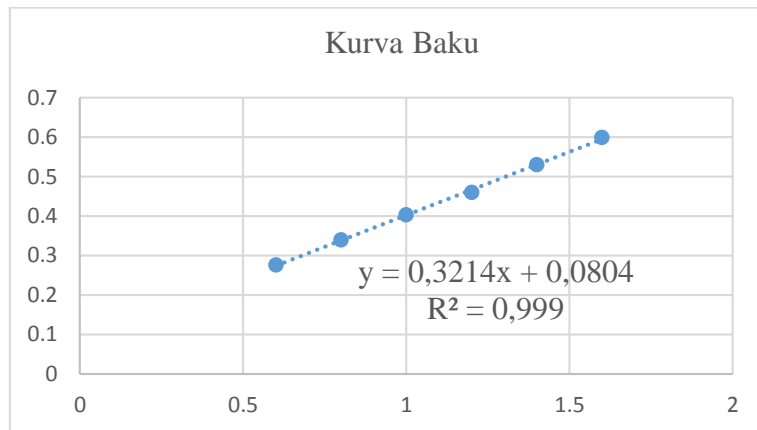
Penetapan *operating time* dilakukan untuk mengetahui kestabilan serapan pada menit berapa dengan mengamati serapan absorbansi mulai dari menit ke 1 sampai menit ke 30 pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Penetapan *operating time* baku kloramfenikol, serapan yang stabil pada menit ke 0 sampai menit ke 8, menit ke 10 sampai 11, menit ke 13 sampai 14, menit ke 15 sampai ke 16, menit ke 17 sampai 18, menit ke 20 sampai 24, menit ke 25 sampai ke 30. Pada penelitian ini pembacaan *operating time* dilakukan pada menit ke 0 sampai ke 8 karena pada waktu tersebut tepat untuk preparasi sampel dan pembacaan absorbansi sampel. Hasil *operating time* dapat dilihat pada lampiran 3.



Gambar 5. Operating Time

4. Penentuan kurva kalibrasi

Larutan baku kloramfenikol 100 ppm dibuat seri konsentrasi 0,6 ; 0,8 ; 1,0 ; 1,2 ; 1,4 dan 1,6 ppm, kemudian dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 275 nm.



Gambar 6. Kurva Baku

Hasil kurva kalibrasi menunjukkan persamaan regresi $y = 0,3214x + 0,0804$ dengan nilai $R^2 = 0,999$ data perhitungan seri konsentrasi dapat dilihat pada lampiran 3.

5. Penetapan kadar sampel

Uji kuantitatif bertujuan untuk mengetahui kadar residu kloramfenikol pada sampel ikan lele. Pada penelitian ini sebelum dilakukan uji kuantitatif dilakukan ekstraksi sampel terlebih dahulu, sampel di ekstraksi untuk memisahkan antara sampel daging ikan lele dengan supernatan yang mengandung residu dari kloramfenikol. Ekstraksi dilakukan dengan penarikan residu kloramfenikol dengan pelarut metanol, digojok selama 2 menit kemudian didiamkan selama 10 menit, saring dengan kertas saring sampai didapat larutan yang jernih, sonikasi selama 5 menit jika larutan yang didapat kurang jernih.. Setelah itu sampel ikan lele dibaca absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 275 nm. Hasil penetapan kadar kloramfenikol pada sampel daging ikan lele segar menggunakan 3 kali replikasi.

Tabel 1 Data Kadar Sampel

Replikasi Sampel	Berat Sampel (g)	Absorbansi	X (ppm)	Kadar (b/b)	Rata-rata kadar
1	10,0030	0,340	0,8077	0,0020	0,0022
2	10,0744	0,371	0,9042	0,0022	
3	10,0190	0,388	0,9571	0,0024	

Tujuan dilakukannya uji kuantitatif untuk mengetahui kadar residu kloramfenikol pada ikan lele yang beredar di Pasar Gede Surakarta. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa setelah dianalisis dengan Spektrofotometri UV-Vis semua sampel ikan lele mengandung residu kloramfenikol. Konsentrasi residu kloramfenikol tertinggi ada pada replikasi 3 dengan kadar konsentrasi 0,0024 % . Hasil penelitian kadar kloramfenikol pada ikan lele dengan metode Spektrofotometri UV-Vis terdapat kadar kloramfenikol pada ikan lele dengan rata-rata kadar kloramfenikol pada 3 replikasi sampel sebesar 0.0022% atau sebesar 0.000002 $\mu\text{g/g}$. Berdasarkan penelitian ini kadar kloramfenikol tidak melebihi BMR (Batas Maksimum Residu) berdasarkan pada Standar Nasional Indonesia (0.01 $\mu\text{g/g}$). Hal ini menunjukkan bahwa dalam ikan lele yang di dijual atau dibudidayakan, yang diberikan pengobatan dengan antibiotik kloramfenikol meninggalkan residu kloramfenikol dalam daging ikan lele yang biasa di konsumsi.

6. Penetapan validasi metode berdasarkan batas deteksi dan batas kuantitasi

Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan metode tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaan atau tidaknya (Tetrasari, 2003). Metode analisis sendiri dapat memberikan data yang dipercaya jika memenuhi beberapa parameter validasi metode yang telah disyaratkan, yaitu ketelitian (presisi) adalah ukuran yang menunjukkan suatu derajat yang diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Kecermatan (akurasi) adalah ukuran ketepatan prosedur analisis (Rohman, 2007).

Linieritas adalah kemampuan metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit dalam sampel pada kisaran konsentrasi tertentu (Ermer dan Miller, 2005). Kelinearan ditentukan dengan membuat kurva kalibrasi antara luas area di bawah kurva terhadap konsentrasi kloramfenikol baku. Kelinearan terpenuhi apabila nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1. Pada penelitian ini didapatkan nilai korelasi sebesar 0,999485 sehingga linearitas ditentukan memenuhi persyaratan yang telah ditentukan.

Berdasarkan validasi metode nilai LOD yang di dapat yaitu sebesar 0,0441 ppm, nilai LOQ yaitu sebesar 0,1338 ppm, sedangkan pada linieritas yaitu 0,999485 untuk nilai presisi, ketelitian (presisi) ditentukan berdasarkan nilai %RSD. Syarat nilai %RSD adalah tidak boleh lebih dari 2% (Harmita, 2004). Berdasarkan pada penelitian ini didapatkan nilai RSD yaitu 0,05% sehingga presisi dinyatakan memenuhi persyaratan yang ditentukan.

Uji ketepatan digunakan untuk menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persentase perolehan kembali (% recovery). Hasil % recovery dikatakan memenuhi syarat apabila range masuk kedalam kriteria penerimaan akurasi yaitu sebesar 80-120% (Ahuja, 2005). Pada penelitian ini nilai akurasi yang diperoleh baik karena berada dalam rentang 80-120%. Hasil validasi metode dapat dilihat pada lampiran 6.