

ANALISIS KADAR RESIDU ANTIBIOTIK Kloramfenikol PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DI KABUPATEN BANGKALAN DENGAN METODE ELISA (ENZYM LINK IMMUNOSORBENTASSAY)
ANALYSIS OF ANTIBIOTIC CLORAMPHENICOL RESIDUAL LEVELS IN VANNAMEI SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) IN BANGKALAN REGENCY BY ELISA METHOD (ENZYM LINK IMMUNOSORBENTASSAY)

Jihan Mayang Sari dan Hafiludin*

Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Trunojoyo Madura
Jl. Raya Telang, PO. Box. 2 Kamal, Bangkalan-Madura

*Corresponding author: hafiludin@trunojoyo.ac.id

Submitted: 28 December 2022 / Revised: 12 May 2023 / Accepted: 17 May 2023

<http://doi.org/10.21107/juvenil.v4i2.18075>

ABSTRAK

Penggunaan antibiotik pada budidaya udang masih dilakukan. Antibiotik yang sering digunakan yaitu kloramfenikol yang merupakan antibiotik berspektrum luas dalam aktivitas untuk melawan bakteri aerobik, anaerobik, dan fungi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui adanya kandungan kloramfenikol dan mengetahui kadar kloramfenikol pada udang vannamei. Metode yang digunakan yaitu metode ELISA (Enzym link immunosorbent assay) untuk menganalisis kandungan dan kadar kloramfenikol pada udang vannamei. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu terdapat kandungan kloramfenikol pada semua sampel udang vannamei dengan perubahan warna menjadi kuning. Kadar residu yang diperoleh dari Kwanyar sebesar 0,006 ppb, Sepulu sebesar 0,027 ppb dan Socah sebesar 0,014 ppb. Hal ini menunjukkan bahwa udang vannamei di tiga lokasi tersebut masih aman untuk dikonsumsi dan di ekspor karena tidak melebihi BMR yang ditetapkan SNI 01- 6366-2000 yaitu sebesar 0,01 ppm dan Uni Eropa sebesar 0,3 ppb.

Kata Kunci: Antibiotik, Kloramfenikol, Udang vannamei, ELISA

ABSTRACT

The use of antibiotics in shrimp cultivation is still being carried out. The most commonly used antibiotic is chloramphenicol. Chloramphenicol is a broad-spectrum antibiotic with activity against aerobic, anaerobic, and fungal bacteria. The purpose of this study was to determine the content of chloramphenicol and to determine the levels of chloramphenicol in vannamei shrimp. The ELISA (Enzyme link immunosorbent assay) to analyze the content and levels of chloramphenicol in vannamei shrimp. The results obtained were that there was chloramphenicol content in all vannamei shrimp samples with a change in color to yellow. The residual level obtained from Kwanyar was $0,006 \pm 0,0044$ ppb, Sepulu was $0,027 \pm 0,0172$ ppb and Socah was $0,014 \pm 0,0026$ ppb. It can be concluded that vannamei shrimp in the three locations are still safe for consumption and export because they do not exceed the BMR set by SNI 01-6366-2000 which is 0,01 ppm and the European Union is 0,3 ppb.

Keywords: Antibiotics, Chloramphenicol, Vannamei Shrimp, ELISA

PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu komoditi perikanan yang paling banyak diminati oleh masyarakat dan memiliki nilai ekonomis tinggi. Udang yang memiliki nilai produksi tertinggi dan menjadi minat masyarakat untuk dikonsumsi serta di-ekspor adalah udang vannamei. Kegiatan ekspor yang akan dilakukan perlu adanya SOP (*Standard Operating Procedure*)

yang harus terpenuhi dan ditaati antara lain pengujian mutu dan keamanan pangan dari produk yang akan diekspor (Dirjen PDSPKP KKP, 2015). Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan nomor 19 tahun 2010 tentang Pengendalian Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan menyatakan bahwa diperlukan upaya pencegahan yang dilakukan sejak pra produksi sampai pendistribusian untuk

menghasilkan perikanan yang bermutu dan aman bagi kesehatan.

Data dari BKIPM (Balai Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu) mengenai volume ekspor udang pada negara tujuan tahun 2020 yaitu bernilai 74,746.67 ton ke negara Amerika Serikat, China sebesar 6,968.86 ton, Jepang 8,705.30 ton dan Eropa 3,268.22 ton. Kegiatan ekspor udang vannamei memicu meningkatnya budidaya udang vannamei. Hal ini memicu penggunaan antibiotik pada udang yang digunakan sebagai terapi saat terinfeksi penyakit akibay terpapar bakteri tertentu (Saputra & Arfi, 2021). Salah satu jenis antibiotik yang sering digunakan adalah kloramfenikol.

Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang memiliki aktivitas untuk melawan bakteri aerobik, anaerobik, dan fungi (Raffi & Suresh, 2011). Batasan maksimum residu (BMR) kloramfenikol yang telah ditetapkan oleh beberapa negara ekspor seperti Uni Eropa (UE) sebesar 0,3 ppb (European Commission, 2003). Batasan maksimum residu kloramfenikol yang ditetapkan oleh SNI 01-6366-2000 kandungan kloramfenikol sebesar 0,01 ppm.

Penolakan ekspor udang vannamei Indonesia yang masuk ke Jepang terjadi pada tahun 2012, hal ini disebabkan udang vannamei yang diekspor mengandung antibiotik kloramfenikol. Pemerintah Jepang sangat ketat dan selektif dalam menerima produk impor ikan. Pemberian antibiotik pada budidaya udang di Indonesia dicampur dengan pakan udang, hal tersebut dilakukan supaya udang tidak rentan terhadap penyakit sehingga tingkat kematiannya kecil (Sugianto, 2017).

Dampak yang akan terjadi pada manusia apabila mengkonsumsi makanan yang mengandung kloramfenikol dapat berupa gangguan lambung, usus, neuropati optis dan perifer. Kerugian lain akibat residu kloramfenikol ini adalah udang yang mengandung kloramfenikol tidak dapat diekspor karena beberapa negara telah menetapkan *zero tolerance* terhadap udang yang mengandung kloramfenikol (Alghifari *et al.*, 2017). Pengujian antibiotik kloramfenikol dilakukan dengan menggunakan metode ELISA (*Enzym Link Immunosorbent Assay*). Metode ELISA merupakan metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi antibody dengan salah satu uji serologi (Wulandari *et al.*, 2019).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi adanya kandungan kloramfenikol

pada udang vannamei di Kabupaten Bangkalan dengan melihat perubahan warna, serta menghitung kadar kloramfenikol yang diperoleh dengan menggunakan ELISA reader.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada November 2021-Februari 2022. Penelitian ini dilakukan pada tiga tempat yang berbeda. Pengambilan sampel udang vannamei dilakukan di Kecamatan Sepulu, Kwanyar dan Socah. Analisa antibiotik kloramfenikol dilakukan di Unit Pelayanan Terpadu Pengujian Mutu dan Pengembangan Produk Kelautan dan Perikanan (PMP2KP) Surabaya.

Metode Pengambilan Data

Metode penelitian yang digunakan ialah metode kualitatif dan kuantitatif. Sampel diperoleh dari 3 lokasi yang berbeda dengan masing-masing 3 kali pengulangan. Untuk mengetahui apakah perbedaan lokasi memberikan pengaruh nyata terhadap kadar kloramfenikol, maka data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis *One Way ANOVA* pada program SPSS. Langkah-langkah pengujian dilakukan secara analisis kualitatif dan kuantitatif pada penelitian ini berdasarkan instruksi kerja pengujian kloramfenikol terhadap udang vannamei.

Preparasi sampel

Sampel dihaluskan sebanyak 250 g, kemudian ditimbang sebanyak 3 gram dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge *polypropylene* 50 ml. Kemudian ditambahkan 6 ml *ethyl acetate* dan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* selama 1 menit. Sampel yang telah dihomogenkan, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit untuk memisahkan larutan *ethyl acetate* dengan padatan sampel. Supernatan *ethyl acetate* (lapisan atas) dipindahkan ke tabung reaksi sebanyak 4 ml. Kemudian supernatant *ethyl acetate* dikeringkan dengan menggunakan *nitrogen evaporator* pada suhu 50-60°C. Tambahkan larutan *n-hexane* sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml 1x *Extraction diluent*, kemudian di-*vortex* selama 30 detik. Setelah itu disentrifugasi selama 10 menit pada 3500 rpm.

Pengujian Kloramfenikol

Pengujian kloramfenikol yang pertama yaitu kloramfenikol standar yang disebut Kloramfenikol (CAP) sebanyak 50 µl dengan

konsentrasi (0 ppb; 0,025 ppb; 0,05 ppb; 0,1 ppb; 0,3 ppb; 0,6 ppb) dimasukkan ke dalam setiap *well* secara duplo dan berurutan. Kemudian analit kloramfenikol dimasukkan ke dalam *well* sebanyak 100 µl secara berurutan. *Enzyme conjugate* ditambahkan sebanyak 50 µl, kemudian diinkubasi dalam kondisi tertutup atau gelap selama 30 menit dengan suhu ruangan 19-25 °C. Cairan yang terdapat di dalam *well* dibuang sampai benar-benar kering, lalu seluruh *well* yang kering dicuci sebanyak 3-4x dengan 1x *wash solution* sebanyak 250 µl. Setelah dicuci, *well* diketukkan pada tisu kering. Selanjutnya, tambahkan sebanyak 100 µl Substrat solution dan inkubasi dalam keadaan tertutup atau gelap selama 15 menit. Tambahkan sebanyak 50 µl larutan *Stop solution* dan dilakukan dengan pembacaan kadar menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 450 nm.

Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif kloramfenikol pada udang vannamei dilakukan dengan melihat perubahan warna pada sampel saat pemberian enzim serta *stop solution* yang digunakan untuk menghentikan kerja enzim. Sampel dinyatakan mengandung kloramfenikol jika warna yang

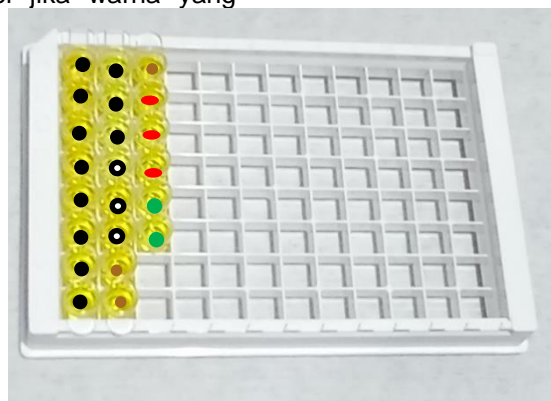
dihasilkan sama dengan warna larutan standar kloramfenikol.

Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif kloramfenikol dilakukan dengan menghitung nilai absorbansi yang diperoleh dari pembacaan *ELISA reader*. Perhitungan kadar kloramfenikol dilakukan dengan menggunakan aplikasi *ELISA calculator* yang sudah disediakan dalam komputer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian kloramfenikol dapat dilakukan dengan berbagai macam pengujian salah satunya uji pewarnaan. Uji pewarnaan dilakukan dengan penambahan enzim untuk memperoleh warna pada sampel. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada (**Gambar 1**) bahwa pengujian pertama hingga ke tiga yang dilakukan pada 3 sampel udang semuanya berubah menjadi warna kuning. Hal itu menandakan bahwa pada sampel tersebut mengandung antigen, tetapi perubahan warna pada sampel tersebut tidak terbentuk seperti warna pekat pada blanko.



Gambar 1. Perubahan Warna Sampel

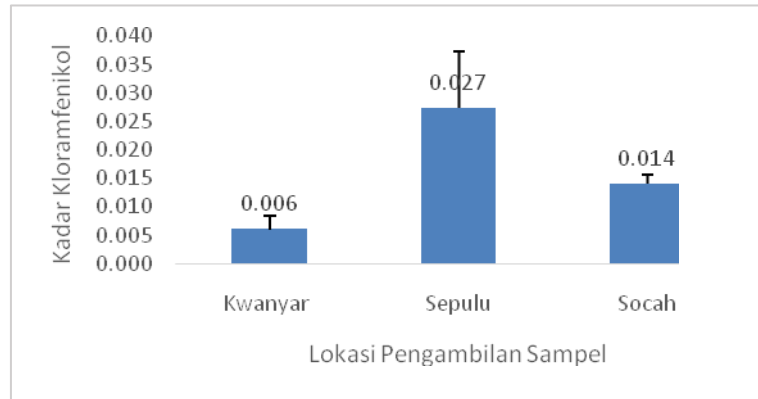
Keterangan: ● : Larutan Standar CAP; ○ : Sampel Kwanyar; ● : Sampel Sepulu; ● : Sampel Socah; ● : Kontrol Positif

Hasil tersebut menyatakan bahwa terdapat kandungan residu kloramfenikol pada sampel udang tetapi dalam kadar yang kecil. Reaksi enzimatik yang terjadi antara enzim dan reaktan dapat digunakan untuk menandakan adanya reaksi yang kemudian dapat diukur secara kualitatif berdasarkan perubahan warna dalam sistem (Rohima & Ina, 2018). Miller (2006) dalam penelitiannya menyatakan jika

sampel yang akan diuji mengandung antigen, reaksi uji akan berubah menjadi kuning. Semakin tinggi intensitas warna yang terbentuk, maka semakin tinggi pula konsentrasi antigen dalam sampel.

Penentuan Kadar Kloramfenikol

Hasil kadar kloramfenikol yang terkandung pada udang vannamei dari 3 lokasi di kabupaten Bangkalan yang diperoleh dari pembacaan *ELISA reader* dapat dilihat pada (**Gambar 2**).



Gambar 2. Hasil Kadar Kloramfenikol

Hasil tersebut menunjukkan bahwa sampel udang setelah dianalisis dengan menggunakan ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay) semuanya mengandung residu kloramfenikol, terlihat dari terdeteksinya konsentrasi 9 sampel udang pada ELISA *reader* dengan konsentrasi yang berkisar antara 0,006-0,027 ppb. Kadar residu kloramfenikol yang memiliki nilai rata-rata tertinggi adalah lokasi Sepulu dengan rata-rata kadar kloramfenikol $0,027 \pm 0,0172$ ppb dan nilai kadar kloramfenikol yang paling rendah adalah lokasi Kwanyar sebesar $0,006 \pm 0,0044$ ppb (**Gambar 2**).

Hasil kadar kloramfenikol pada semua lokasi berada di bawah BMR kloramfenikol yang ditetapkan oleh SNI 01-6366-2000 yaitu 0,01 $\mu\text{g/g}$. Kadar nilai tersebut juga masih dibawah BMR yang ditentukan oleh Uni Eropa sebesar 0,3 ppb. Hal ini menunjukkan bahwa dalam udang vannamei yang dibudidayakan ataupun udang vannamei yang diberikan pengobatan menggunakan antibiotik kloramfenikol meninggalkan residu kloramfenikol dalam daging udang vannamei yang biasa dikonsumsi. Kadar yang diperoleh dari semua sampel udang vannamei masih termasuk kategori yang diperbolehkan untuk diekspor karena masih dibawah batas maksimum residu yang ditentukan. Kadar kloramfenikol yang diperoleh pada lokasi Sepulu adalah yang tertinggi dibandingkan dengan lokasi yang lainnya. Penyebab kadar kloramfenikol pada lokasi Sepulu tertinggi dikarenakan adanya residu kloramfenikol yang masih banyak menempel pada tubuh udang vanamei saat diberikan antibiotik. Antibiotik yang diberikan pada organisme budidaya mengalami proses hayati pada tubuh (farmakokinetika), yaitu resorpsi, transpor, biotransformasi (metabolisme), distribusi dan ekskresi. Senyawa-senyawa yang masuk dalam bentuk asli juga metabolitnya akan tertinggal atau tertahan dalam jaringan pada waktu tertentu, senyawa tersebut atau metabolitnya yang

dianggap sebagai residu. Yanan *et al.*, (2021) menyatakan saat kloramfenikol diberikan kepada biota budidaya mampu mencemari permukaan tanah dan tetap aktif secara biologis.

Senyawa-senyawa yang masuk dalam bentuk asli juga metabolitnya akan tertinggal atau tertahan pada dalam jaringan pada waktu tertentu, senyawa tersebut atau metabolitnya disebut sebagai residu. Wang *et al.*, 2021 menyatakan saat kloramfenikol diberikan kepada biota budidaya mampu mencemari permukaan tanah dan tetap aktif secara biologis. CAP dapat terbentuk karena limpasan permukaan, memungkinkan mereka untuk membentuk siklus hidup antara lingkungan, kehidupan akuatik, dan ternak.

Nilai rata-rata kadar kloramfenikol kemudian dilakukan analisa data dengan menggunakan uji one way ANOVA dengan *confidence interval* 95% memperoleh hasil $\text{sig} > 0,05$ yang menandakan bahwa lokasi pengambilan sampel tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kadar kloramfenikol yang ditemukan.

Hasil kadar kloramfenikol juga diperoleh Saputra & Arfi (2021) dalam penelitiannya tentang analisis residu kloramfenikol pada udang windu (*Penaeus monodon*) menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) memperoleh hasil kadar kloramfenikol sebesar 0,0024634 ppm. Kadar tersebut masih dibawah BMR yang ditetapkan oleh SNI 01-6366-2000 sebesar 0,01 ppm. Kadar kloramfenikol yang diperoleh pada penelitian Wibowo *et al.* (2010) tentang analisis residu antibiotik kloramfenikol dalam daging ikan gurami (*Osphronemus gouramy, Lac*) menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) ada yang melebihi batas maksimum residu (BMR) yang ditetapkan oleh Uni Eropa sebesar 0,3 ppb, nilai yang diperoleh yaitu 0,276; 0,281; 1,168

ng/g. Hasil yang diperoleh tersebut tidak melebihi BMR sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (0,01 µg/g), namun dalam penelitian ini terdapat satu sampel yang melebihi BMR Uni Eropa. Enzim yang digunakan pada pengujian kloramfenikol akan menempelkan substrat ke situs aktifnya, sehingga akan mengkatalis bahan kimia reaksi pada produk yang terbentuk dan hal itu akan memungkinkan sampel untuk terdisosiasi (terpisah dari permukaan enzim). Reaksi yang dikatalis oleh enzim substrat yang pertama akan berikatan dengan situs aktif enzim untuk membentuk enzim-substrat (ES) kompleks kemudian substrat akan diubah menjadi produk sementara yang melekat pada enzim yang pada akhirnya produk akan dilepaskan (Kumari,2020).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Sampel udang vannamei dari ke tiga lokasi Kwanyar, Sepulu dan Socah ditemukan adanya kadar residu kloramfenikol dengan adanya perubahan warna pada sampel yang mendekati dengan warna larutan standarnya. Kadar residu kloramfenikol yang diperoleh dengan pembacaan ELISA *reader* yaitu Kwanyar rata-rata nilai kadar $0,006 \pm 0,0044$ ppb, Sepulu nilai kadarnya $0,027 \pm 0,0172$ dan rata-rata nilai kadar Socah $0,014 \pm 0,0026$. Nilai kadar kloramfenikol yang diperoleh masih dibawah batas maksimum residu (BMR) yang di tentukan oleh SNI sebanyak 0,01 µg/g dan nilai tersebut juga masih dibawah BMR yang ditentukan oleh Uni Eropa sebesar 0,3 ppb.

Saran

Saran dari peneliti yaitu perlu dilakukan adanya penelitian lebih lanjut yang dilakukan pada tambak yang berbeda seperti tambak tradisional dan tambak semi intensif. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan pengujian pada antibiotik yang lainnya seperti Oksitetrasiklin, Penisilin, Doksisisiklin dan sebagainya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya ucapkan atas hasil penelitian yang telah dilakukan. Saya ucapkan terima kasih kepada Tuhan YME dan segala pihak yang telah membantu

DAFTAR PUSTAKA

Alghifari, D., Kuswandi, B., & Pratoko, D. K. (2017). Pengembangan Sensor Kloramfenikol Berbasis Imobilisasi Bovine Serum Albumin (BSA) pada

Selulosa Asetat dengan Metode Spektrofotometri. *E-Journal Pustaka Kesehatan*, 5(1), 40–45.

Dirjen PDSPKP KKP. (2015). Pedoman Ekspor Perikanan Ke Negara Mitra (Belanda, Thailand Dan Jepang). *Nhk 技研*, 151.

Kumari, R. (2020). Mechanism of enzyme action. *Quarterly Reviews, Chemical Society*, 21(3), 1–13.

Miller, D. C. (2006). Mechanism(s) of enhanced vascular cell response to polymeric biomaterials with nano-structured surface features. In *Purdue University, West Lafayette, Indiana* (Vol. 130, Issue 2).

Raffi, S. M. &, & Suresh, T. V. (2011). Screening of Chloramphenicol in wild and cultured shrimp *Penaeus monodon* by Competitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *International Conference on Chemical, Biological and Environment Sciences (ICCEBS'2011)*, 313–317.

Rohima, I. E., & Ina, S. N. (2018). Identifikasi Protein Hewani Pada Produk Bumbu Instan Impor dengan Metode ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). *Pasundan Food Technology Journal*, 5(3), 167–169.

Saputra, S. adi, & Arfi, F. (2021). Analisis Residu Kloramfenikol Pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) Menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Amina*, 1(3), 126–131.

Sugianto, R. (2017). Fluktuasi ekspor udang Indonesia ke Jepang tahun 2010-2014. *JOM FISIP*, 4(2), 1–16.

Wang, Y., Zhang, W., Mhungu, F., Zhang, Y., Liu, Y., Li, Y., Luo, X., Pan, X., Huang, J., Zhong, X., Song, S., Li, H., Liu, Y., & Chen, K. (2021). Probabilistic risk assessment of dietary exposure to chloramphenicol in guangzhou, china. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(8805), 1–11.

Wibowo, A., Muliana, L., & Prabowo, M. H. (2010). ANALISIS RESIDU ANTIBIOTIK Kloramfenikol dalam daging Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*, Lac) menggunakan metode High Performance Liquid Chromatography. In *Jurnal Ilmiah Farmasi* (Vol. 7, Issue 1). <https://doi.org/10.20885/jif.vol7.iss1.art1>

Wulandari K. E, Y. T., Susanti, R., & Bintari, S. H. (2019). Analisis Perkembangan Titer Antibodi Hasil Vaksinasi Infectious

- Bronchitis pada Ayam Petelur Strain Hisex Brown. *Life Science*, 8(1), 25–33.
- Yanyan, W., Weiwei, Z., Florence, M., Yuhua, Z., Yufei, L., Yan, L., Xiaoyan, L., Xinhong, P., Jie, H., Xianwu, Z., Shaofang, S., Hailin, L., Yungang, L., & Kuncai, C. (2021). No Title. *Probabilistic Risk Assessment of Dietary Exposure to Chloramphenicol in Guangzhou, China*, 18(8805), 1–11.