

**PENGARUH PENINGKATAN ZAT BESI RANSUM DAN PEMBERIAN
OKSITETRASIKLIN PADA AYAM TERHADAP KANDUNGAN RESIDU
OKSITETRASIKLIN DAN AKTIVITASNYA DALAM TELUR**

*[Effects of Increasing Dietary Iron and Administering Oxytetracycline to Laying Hens on
Oxytetracycline Residues and Their Activity in Eggs]*

A. Hintono, M. Astuti*, H. Wuryastuti, dan E. S. Rahayu***

Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang

**Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta*

***Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta*

Received September 28, 2007; Accepted November 20, 2007

ABSTRAK

Suatu penelitian telah dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh peningkatan zat besi ransum pada pengurangan dan inaktivasi residu oksitetrasiklin dalam telur bilamana ayam diberi oksitetrasiklin. Ayam petelur strain Lohman Brown MB402 diberi oksitetrasiklin lewat air minum dengan dosis 2 gram/liter selama 7 hari berturut-turut dan diberi ransum yang ditingkatkan kandungan zat besinya dengan penambahan 100 ppm, 200 ppm dan 300 ppm. Pada hari keempat dan keenam pemberian oksitetrasiklin, telur dianalisis kandungan zat besi, residu oksitetrasiklin dan aktivitasnya baik pada putih maupun kuning telur. Hasil menunjukkan bahwa peningkatan zat besi ransum tidak dapat meningkatkan zat besi putih telur sehingga tidak dapat menginaktifkan residu oksitetrasiklin yang ada dalam putih telur; namun dapat meningkatkan zat besi kuning telur, mengurangi dan menginaktifkan residu oksitetrasiklin pada penambahan 200 ppm, dan pada penambahan 300 ppm dapat meniadakan residu oksitetrasiklin dalam kuning telur.

Kata kunci : oksitetrasiklin, zat besi, ayam, telur, residu, aktivitas

ABSTRACT

An experiment was conducted to elucidate the effects of increasing dietary iron on the reduction and inactivation of oxytetracycline residues in eggs, in which the hens administered oxytetracycline. Laying hens were administered oxytetracycline via drinking water with 2 g/l for 7 successive days and fed on the diet that increased the iron content by adding 100 ppm, 200 ppm and 300 ppm. The iron content, residue and activity of oxytetracycline in eggs, both in white and yolk, were evaluated on 4th and 6th of administering oxytetracycline. Results indicated that the iron in egg white could not be increased due to the increased of iron in dietary. Therefore, oxytetracycline residue existing in egg white could not be inactivated. However, addition of 200 ppm iron in dietary increased the iron content, reduced and inactivated oxytetracycline residue in yolk. Whereas the addition of 300 ppm iron in dietary eliminated oxytetracycline residue in yolk.

Keywords: oxytetracycline, iron, hen, egg, residue, activity

PENDAHULUAN

Oksitetrasiklin merupakan salah satu antibiotik yang banyak digunakan pada peternakan ayam, baik dengan dosis sub-terapeutik untuk pencegahan terhadap penyakit, pemacu pertumbuhan dan produksi telur serta efisiensi penggunaan pakan, maupun dengan dosis terapeutik untuk tujuan pengobatan

penyakit. Namun kini penggunaan antibiotik termasuk oksitetrasiklin dengan dosis sub-terapeutik dilarang di banyak negara termasuk Indonesia (Direktorat Jenderal Peternakan, 1991). Oleh karena itu preparat oksitetrasiklin komersial yang masih ada di pasaran yang pernah direkomendasikan untuk pencegahan penyakit dan pemacu produksi telur dengan dosis sub-terapeutik 1 gram/liter air minum ayam, kini digunakan

dengan dosis terapeutik 2 gram/liter.

Di satu pihak penggunaan oksitetrasiklin dapat meningkatkan produktivitas ayam di lain pihak berdampak menimbulkan residu dalam telur. Hasil penelitian Hintono *et al.* (2007) menunjukkan bahwa pemberian oksitetrasiklin pada ayam petelur dengan dosis 2 g/l air minum selama 7 hari berturut-turut dapat menimbulkan residu melebihi *maximum residue limit* (MRL) yang ditetapkan SNI (Standard Nasional Indonesia) yakni 0,05 ppm (Departemen Pertanian, 2001), baik dalam putih maupun kuning telur sampai dengan 2 hari setelah penghentian. Kandungan residu tertinggi dijumpai pada hari ke-6 pemberian oksitetrasiklin baik pada putih maupun kuning telur, namun aktivitas antibakterinya sama dengan hari ke-4. Sebenarnya kandungan tertinggi residu oksitetrasiklin tersebut masih berada dibawah ambang batas yang dianggap toksik oleh WHO (1969) yakni 5 – 7 ppm, namun adanya aktivitas residu oksitetrasiklin dalam telur berbahaya bagi konsumen karena dapat menyebabkan berkembangnya bakteri patogen yang resisten antibiotik. Agar telur yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi, maka aktivitas residu oksitetrasiklin harus dihilangkan.

Oksitetrasiklin bebas dapat membentuk kompleks khelat dengan mineral-mineral yang tergolong logam divalen atau polivalen seperti kalsium (Ca), magnesium (Mg), besi (Fe) dan aluminium (Al) (Huber, 1977; Reviere dan Spoo, 1995). Terbentuknya khelat oksitetrasiklin dengan ion-ion logam di atau polivalen akan menurunkan aktivitas oksitetrasiklin (Purwanto dan Susilowati, 2000). Hasil penelitian Hintono *et al.* (2003) menunjukkan bahwa penambahan zat besi dalam bentuk $FeCl_2$ pada larutan oksitetrasiklin-HCl menginaktifkan oksitetrasiklin.

Telur mengandung zat besi baik di putih maupun kuningnya, maka residu oksitetrasiklin dalam telur seharusnya bersifat inaktif; namun demikian residu oksitetrasiklin dalam telur menunjukkan aktivitasnya. Kandungan zat besi dalam telur hanya sedikit dan paling sedikit dibanding dengan mineral yang lain (Powrie dan Nakai, 1990); lagi pula pada kuning telur, zat besi terikat pada fosvitin (Juneja dan Kim, 1997) sedangkan pada putih telur zat besi terikat pada konalbumin (Burley dan Vahdera, 1989). Dengan demikian diduga jumlah zat besi bebas dalam telur tidak cukup untuk berikatan dengan seluruh residu oksitetrasiklin dalam telur sehingga tidak mampu

menginaktifkannya.

Penelitian ini dirancang untuk meningkatkan zat besi putih dan kuning telur dari ayam yang diberi oksitetrasiklin, melalui peningkatan zat besi ransumnya, dengan tujuan untuk mengurangi/menghilangkan residu oksitetrasiklin dalam telur atau menginaktifkannya.

MATERI DAN METODE

Materi

Dalam percobaan ini digunakan $FeSO_4 \cdot H_2O$ (China Food & Feed Manufacturing Co.Ltd.) dengan kadar Fe 30% sebagai sumber zat besi dan oksitetrasiklin-HCl (Huashu-Dafeng Pharm., China).

Ayam yang dipergunakan dalam percobaan adalah ayam petelur coklat strain Lohman Brown MB402 (PT Multibreeder Adirama Indonesia) berumur 41 minggu, yang sebelumnya dipelihara dari umur 1 hari tanpa pemberian antibiotik.

Ransum basal yang diberikan mengandung protein 18,40% (hasil analisis proksimat), energi metabolis 2943 kkal/kg (hasil perhitungan) dan kandungan zat besi total 58,31 ppm (hasil analisis), dengan komposisi bahan baku sebagai berikut: jagung kuning 59 %, bekatul 18 %, corn gluten meal 10 %, bungkil kedele 5 %, meat bone meal 5 % dan tepung ikan 3 %.

Rancangan Percobaan

Percobaan dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan, yang diatur sebagai rancangan petak terbagi dengan menempatkan periode hari pemberian oksitetrasiklin lewat air minum sebagai petak utama dan penambahan zat besi (Fe) ransum sebagai perlakuan anak petak. Periode hari pemberian oksitetrasiklin meliputi hari ke-4 dan hari ke-6, sedangkan penambahan zat besi ransum meliputi T_0 = ransum basal, T_1 = ransum basal + 100 ppm Fe, T_2 = ransum basal + 200 ppm Fe dan T_3 = ransum basal + 300 ppm Fe.

Jalannya Percobaan

Sebelum perlakuan diberikan, sebanyak 240 ekor ayam dipelihara di dalam kandang system battery dengan diberi ransum basal secara *ad libitum* dan air minum 2 kali sehari, telur dipungut setiap hari. Pada saat akan dimulai pemberian perlakuan ayam-ayam tersebut dibagi menjadi 12 unit percobaan dengan 20 ekor ayam per unit, kemudian diberi pakan dengan

peningkatan kadar besi ransum sesuai dengan perlakuan. Sehari kemudian semua ayam diberi air minum yang mengandung oksitetrasiklin dengan dosis 2 gram per liter. Pada hari keempat dan keenam pemberian oksitetrasiklin, telur yang dihasilkan dipecah, dipisahkan antara putih dan kuningnya, masing-masing dianalisis kandungan zat besi, residu oksitetrasiklin dan aktivitas antibakterinya.

Analisis zat besi

Total zat besi ditentukan dengan menggunakan prosedur pengabuan kering, dilanjutkan dengan pengukuran menggunakan metoda "Atomic Absorption Spectrophotometric" menurut petunjuk AOAC (1995).

Analisis Statistik

Data yang diperoleh diuji dengan "analysis of variance" (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan, dan untuk mengetahui perbedaan pengaruh di antara perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range pada taraf 1 % dan 5 % (Sastrosupadi, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Zat besi dalam telur

Kandungan zat besi dalam telur hasil dari peningkatan zat besi ransum pada ayam yang diberi oksitetrasiklin lewat air minum diperlihatkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Peningkatan Zat Besi Ransum dan Pemberian Oksitetrasiklin Lewat Air Minum pada Ayam Terhadap Kadar Zat Besi Telur

Penambahan Fe dalam ransum basal (ppm)	Hari pemberian Oksitetrasiklin	Kadar Fe (ppm)	
		Putih	Kuning
0	4	7,63 ^a	21,27 ^a
	6	7,62 ^a	21,48 ^a
100	4	1,41 ^b	40,09 ^b
	6	1,39 ^b	66,06 ^c
200	4	3,48 ^c	45,34 ^d
	6	0,75 ^d	84,67 ^e
300	4	5,40 ^e	60,07 ^f
	6	2,79 ^f	94,64 ^g

^{a-g} Nilai dengan superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata ($p < 0,05$)

Analisis residu oksitetrasiklin dalam telur

Residu oksitetrasiklin dalam telur dianalisis menurut petunjuk Oka dan Patterson (1995) dengan menggunakan HPLC (High Performance Liquid Chromatography = kromatografi cair kinerja tinggi).

Uji aktivitas antibakteri residu oksitetrasiklin dalam telur

Pengujian aktivitas antibakteri residu oksitetrasiklin dilakukan dengan metoda difusi agar, dengan menggunakan spora bakteri *Bacillus cereus* ATCC 11778 sebagai organisme uji, menurut petunjuk Bogaerts dan Wolf (1980) dalam Heitzman (1991) yang dimodifikasi oleh Amonsin *et al.* (1996). Aktivitas antibakteri dinyatakan dalam diameter (mm) zona jernih penghambatan pertumbuhan bakteri pada media agar.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan zat besi ransum dan periode hari pemberian oksitetrasiklin berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kandungan zat besi dalam putih telur dan ada interaksi diantara keduanya. Pemberian oksitetrasiklin menghambat akumulasi zat besi dalam putih telur. Kandungan zat besi putih telur dari ayam yang diberi ransum basal ditambah 100 ppm zat besi lebih rendah ($p < 0,05$) daripada yang diberi ransum basal baik pada hari keempat maupun hari keenam pemberian oksitetrasiklin lewat air minum, dan tidak ada perbedaan ($p > 0,05$) kandungan zat besi putih telur pada pemberian oksitetrasiklin hari keempat dan keenam baik pada ayam yang diberi ransum basal maupun ransum yang ditambah 100 ppm zat besi. Kandungan zat besi putih telur dari ayam yang diberi ransum dengan penambahan 200 ppm zat besi lebih rendah daripada penambahan 300 ppm baik pada hari

keempat pemberian oksitetrasiklin maupun pada hari keenam, dan kandungan zat besi putih telur pada hari keempat pemberian oksitetrasiklin lebih tinggi ($p < 0,05$) daripada hari keenam baik pada ayam yang diberi ransum dengan penambahan 200 ppm maupun 300 ppm zat besi.

Tampak bahwa kandungan zat besi tertinggi ditemukan pada putih telur dari ayam yang diberi ransum basal baik pada pemberian oksitetrasiklin hari keempat maupun keenam; hal ini menunjukkan bahwa peningkatan zat besi ransum tidak serta merta meningkatkan zat besi putih telur, melainkan dapat menurunkan zat besi putih telur walaupun kemudian meningkat namun masih lebih rendah daripada yang tanpa peningkatan zat besi ransum.

Kandungan zat besi kuning telur dari ayam yang diberi oksitetrasiklin lewat air minum dengan peningkatan zat besi ransum diperlihatkan pada Tabel 1. Analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan zat besi ransum dan periode hari pemberian oksitetrasiklin berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kandungan zat besi dalam kuning telur, dan terdapat interaksi yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara penambahan zat besi ransum dan periode hari

pemberian oksitetrasiklin baik hari keempat maupun keenam, dan kandungan zat besi tertinggi dijumpai pada kuning telur dari ayam yang diberi ransum basal ditambah 300 ppm zat besi pada hari keenam pemberian oksitetrasiklin. Hal ini memberikan petunjuk bahwa zat besi kuning telur dapat ditingkatkan dengan peningkatan zat besi ransum ayam dan oksitetrasiklin tidak menghambat akumulasi zat besi ke dalam kuning telur.

Dalam proses pembentukan telur, sebelum diovulasikan ke saluran reproduksi, kuning telur mengalami perkembangan dalam folikel yang berarti juga terjadi akumulasi material penyusun kuning telur termasuk besi. Kuning telur mengandung fosvitin yang dapat mengikat besi. Fosvitin dalam kuning telur tidak jenuh dengan besi dan akan mampu untuk mengikat besi tambahan yang diberikan dalam ransum (Juneja dan Kim, 1997).

Residu oksitetrasiklin dalam telur

Hasil pengamatan kandungan residu oksitetrasiklin dalam telur dari ayam yang diberi oksitetrasiklin lewat air minum dengan peningkatan zat besi ransum diperlihatkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Peningkatan Zat Besi Ransum dan Pemberian Oksitetrasiklin Lewat Air Minum pada Ayam Terhadap Residu Oksitetrasiklin Dalam Telur

Penambahan Fe dalam ransum basal (ppm)	Hari pemberian oksitetrasiklin	Residu oksitetrasiklin (ppm)	
		Putih	Kuning
0	4	1,19 ^a	1,55 ^a
	6	1,79 ^b	3,74 ^{bd}
100	4	2,27 ^c	0,44 ^c
	6	0,41 ^d	4,07 ^b
200	4	1,38 ^e	3,64 ^d
	6	0,34 ^d	0,03 ^e
300	4	0,15 ^f	nd
	6	0,30 ^d	nd

^{a-f}Nilai dengan superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata ($p < 0,05$) nd = tak terdeteksi

pemberian oksitetrasiklin. Semakin tinggi penambahan zat besi ransum, kandungan zat besi kuning telur semakin tinggi dan pemberian oksitetrasiklin memacu akumulasi zat besi pada kuning telur. Kandungan zat besi kuning telur pada pemberian oksitetrasiklin hari keenam lebih tinggi daripada hari keempat. Kandungan zat besi terendah dijumpai pada kuning telur dari ayam yang diberi ransum basal dengan

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa ada interaksi yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara penambahan zat besi ransum dan periode hari pemberian oksitetrasiklin dalam mempengaruhi kandungan oksitetrasiklin putih telur. Pada hari keempat pemberian oksitetrasiklin, penambahan zat besi ransum meningkatkan residu oksitetrasiklin dalam putih telur, namun peningkatan level penambahan zat

besi menurunkannya. Pada hari keenam pemberian oksitetrasiklin, penambahan zat besi ransum memperkecil residu oksitetrasiklin dalam putih telur namun level penambahan zat besi ransum tidak memberikan perbedaan ($p>0,05$) residu oksitetrasiklin dalam putih telur. Tampak pula bahwa residu oksitetrasiklin terendah dalam putih telur masih diatas MRL.

Pada hari keempat pemberian oksitetrasiklin lewat air minum, penambahan 100 ppm zat besi pada ransum menurunkan kandungan residu oksitetrasiklin kuning telur, dan penambahan 200 ppm zat besi pada ransum meningkatkan residu oksitetrasiklin dalam kuning telur namun masih tidak lebih besar daripada pemberian hari keenam dengan ransum basal; sedangkan pada hari keenam pemberian oksitetrasiklin, penambahan 100 ppm zat besi pada ransum tidak menurunkan kandungan oksitetrasiklin kuning telur dan penambahan 200 ppm zat besi pada ransum sangat nyata menurunkan kandungan oksitetrasiklin kuning telur. Pada penambahan 300 ppm zat besi ransum, baik di hari keempat maupun keenam pemberian oksitetrasiklin, residu oksitetrasiklin dalam kuning telur tidak terdeteksi. Hasil ini memberikan petunjuk bahwa peningkatan zat besi ransum ayam dapat menurunkan kandungan residu oksitetrasiklin dalam kuning telur yang dihasilkan dan bahkan dapat meniadakannya. Zat besi dan oksitetrasiklin dapat membentuk senyawa khelat yang menghambat absorpsinya dari saluran pencernaan (Huber, 1977; Reviere dan Spoo, 1995).

Aktivitas antibakteri residu oksitetrasiklin dalam telur

Hasil pengamatan aktivitas antibakteri oksitetrasiklin dalam putih telur dari ayam yang diberi oksitetrasiklin lewat air minum dengan penambahan zat besi ransumnya diperlihatkan pada Tabel 3.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa ada interaksi yang sangat nyata ($p<0,01$) antara penambahan zat besi ransum dan periode hari pemberian oksitetrasiklin dalam mempengaruhi aktivitas antibakteri oksitetrasiklin dalam putih telur.

Pada Tabel 3. tampak bahwa aktivitas antibakteri tertinggi dijumpai pada putih telur dari ayam yang diberi ransum basal, baik pada hari keempat maupun hari keenam pemberian oksitetrasiklin lewat air minum. Aktivitas antibakteri makin menurun seiring dengan penambahan zat besi ransum dan peningkatan periode hari pemberian oksitetrasiklin sampai terendah pada penambahan 200 ppm zat besi dan hari keenam pemberian oksitetrasiklin, dan terjadi peningkatan aktivitas pada penambahan 300 ppm zat besi, namun tidak melebihi aktivitas antibakteri pada penambahan 100 ppm zat besi pada ransum.

Pada kuning telur, tidak ada interaksi yang nyata ($p>0,05$) antara penambahan zat besi ransum dan periode hari pemberian oksitetrasiklin, masing-masing berpengaruh nyata ($p<0,05$) menurunkan aktivitas antibakteri. Penambahan zat besi ransum menurunkan aktivitas antibakteri oksitetrasiklin dalam kuning telur,

Tabel 3. Pengaruh Peningkatan Zat Besi Ransum dan Pemberian Oksitetrasiklin Lewat Air Minum pada Ayam Terhadap Aktivitas Antibakteri Oksitetrasiklin Dalam Telur

Penambahan Fe dalam ransum basal (ppm)	Hari pemberian oksitetrasiklin	Aktivitas antibakteri oksitetrasiklin (mm Ø zona jernih)	
		Putih	Kuning
0	4	20,15 ^a	17,88 ^a
	6	19,99 ^a	15,16 ^b
100	4	16,28 ^{bc}	15,06 ^b
	6	15,77 ^b	14,33 ^b
200	4	17,33 ^c	14,55 ^b
	6	12,09 ^d	-
300	4	13,66 ^e	-
	6	17,10 ^c	-

^{a-e}Nilai dengan superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata ($p<0,05$)

- tidak ada zona jernih

bahkan dengan penambahan 200 ppm zat besi pada ransum dapat menghilangkan aktivitas antibakteri oksitetrasiklin kuning telur dari ayam yang diberi oksitetrasiklin pada hari keenam. Aktivitas antibakteri oksitetrasiklin dalam kuning telur juga tidak ditemukan dengan penambahan 300 ppm zat besi pada ransum; hal ini karena dengan penambahan tersebut residu oksitetrasiklin sudah tidak terdeteksi. Namun demikian karena dalam putih telurnya masih dijumpai residu oksitetrasiklin dan aktivitasnya, maka telur masih berbahaya bila penggunaannya tidak dipisah antara putih dan kuningnya.

KESIMPULAN

Peningkatan zat besi ransum pada ayam yang diberi oksitetrasiklin lewat air minum tidak dapat meningkatkan zat besi putih telur sehingga tidak dapat menginaktifkan residu oksitetrasiklin yang ada dalam putih telur, namun demikian dapat meningkatkan zat besi kuning telur, mengurangi dan menginaktifkan residu oksitetrasiklin pada penambahan 200 ppm, dan pada penambahan 300 ppm dapat meniadakan residu oksitetrasiklin dalam kuning telur. Peningkatan zat besi ransum pada ayam yang diberi oksitetrasiklin lewat air minum tidak dapat membebaskan telur dari bahaya residu oksitetrasiklin.

DAFTAR PUSTAKA

- Amonsin, A., K Saitanu and S. Teeverapanya. 1996. Antibiotic residues in raw milk in Thailand. *AJAS*. 9 : 27-30.
- AOAC, 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th Ed. AOAC International, Arlington, Virginia, USA.
- Burley, R.W. and D.V. Vadehra. 1989. *The Avian Egg: Chemistry and Biology*. John Wiley & Sons, New York.
- Departemen Pertanian. 2001. SNI (Standar Nasional Indonesia). Batas Maksimum Cemar Mikroba dan Batas Maksimum Residu dalam Bahan Makanan Asal Hewan.
- Direktorat Jenderal Peternakan. 1991. Ringkasan Imbuhan Pakan (Feed Additive) untuk Hewan. Direktorat Bina Kesehatan Hewan.
- Heitzman, R.J. 1991. Residues in Food Producing Animals and Their Products: Reference Materials and Methods. Blackwell Scientific Publications, London.
- Hintono, A., M. Astuti, H. Wuryastuti dan E.S. Rahayu. 2003. Efek interaksi oksitetrasiklin dan mineral yang dipanaskan terhadap aktivitas antibakteri. Prosiding seminar Nasional PATPI. Yogyakarta, 22-23 Juli 2003. Hal.288-294.
- Hintono, A., M. Astuti, H. Wuryastuti dan E.S. Rahayu. 2007. Residu oksitetrasiklin dan aktivitas antibakterinya dalam telur dari ayam yang diberi oksitetrasiklin dengan dosis terapeutik lewat air minum. *J. Pengembangan Peternakan Tropis* 32(1):64-69.
- Huber, W.G. 1977. Tetracycline. In : L.M. Jones., N.H. Booth and L.E. McDonald (Ed.). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Ames: The Iowa State University Press. p.929-939.
- Juneja, L.R. dan M. Kim. 1997. Egg yolk protein. In : T.Yamamoto, L.R. Juneja, H. Hatta and M. Kim (Ed.). *Hen Eggs: Their Basic and Applied Science*. CRC Press, Washington DC. p. 57-71.
- Oka, H. and J. Patterson. 1995. Chemical analysis of tetracycline antibiotics. In : H. Oka., H. Nakazawa., K. Harada and J.D. MacNeil (Ed). *Chemical Analysis for Antibiotics Used in Agriculture*. AOAC International. p. 333-406.
- Powrie, W.D. and S. Nakai. 1990. The chemistry of eggs and egg products. In : W.J. Stadelman and O.J. Cotterill (Ed.). *Egg Science and Technology*. Food Product Press, New York. p. 97-139.
- Purwanto, B.T. dan R. Susilowati. 2000. Hubungan struktur, sifat kimia fisika dan aktivitas biologis obat. Dalam Siswandono dan B. Soekardjo (Ed) *Kimia Medisinal 1* . Airlangga University Press, Surabaya. Hal. 161-179.
- Riviere, J.E. and J.W. Spoo. 1995. Tetracycline antibiotics. In : H.R Adams (Ed.). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa State University Press, Iowa. p. 784-796.
- Sastrosupadi, A. 1995. Rancangan Percobaan Praktis untuk Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- WHO, 1969. Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation : some antibiotics. WHO Tech.Rep.Ser.430.