

Deteksi Residu Nitrofuram pada Daging Ayam Pedaging yang Dianalisis Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

RAPHAELLA WIDIASTUTI

Balai Besar Penelitian Veteriner Jl. R.E. Martadinata 30, Bogor 16114
widiastuti_raphaella@yahoo.com

(Diterima 12 Oktober 2012; disetujui 29 November 2012)

ABSTRACT

WIDIASTUTI, R. 2012. Nitrofurans residue in broiler chicken meat which analysed by an HPLC. *JITV* 17(4): 284-289.

Furazolidone (FZD), furaltadone (FTD), nitrofurantoin (NFT) and nitrofurazone (NFZ) are veterinary drugs that belong to the nitrofurans (NFs) group and employed as feed additives for growth promotion and therapeutic treatment of gastrointestinal infections caused by *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. The occurrence of NFs in animal products will end to cause health problem in human consumed such food. This research conducted to study the analysis of NF residues in chicken meat by a high performance liquid chromatography (HPLC) and to study the occurrence of NFs residues in samples collected from traditional markets and supermarkets in Bandung, Bogor and Depok. The results of validation method on several parameters for each NF showed that the average of the relative standard deviation (RSD) from the precision study were 2.15 to 2.38%, the R^2 values of the linearity study were 0.9964 to 0.9995; recoveries were 75.90 % to 91.50 % and the detection limits were 12.01 to 37.25 ng/g. The residual level of NFs for 42 field samples showed that 2 samples positive for NFZ (9.09 and 10.74 ng/g), 1 positive for NFT (10.46 ng/g), 4 positive for FTD (16.44 up to 27.21 ng/g) and none positive for FZD. Present results showed that analysis of NFs in broiler chicken meat can be done using an HPLC and the analysis results from field samples showed that these types of drugs were being used for broiler chicken production both as single and/or combination drugs, therefore it is necessary to raise public awareness to monitor the use of NF in livestock production in Indonesia.

Kata Kunci: Detection, Residue, Nitrofurans, Chicken Meat, HPLC

ABSTRAK

WIDIASTUTI, R. 2012. Deteksi residu nitrofuram pada daging ayam pedaging yang dianalisis secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *JITV* 17(4): 284-289.

Furazolidon (FZD), furaltadon (FTD), nitrofurantoin (NFT) dan nitrofurazon (NFZ) adalah obat hewan dari kelompok nitrofurans (NF) yang digunakan sebagai imbuhan pakan dan pengobatan infeksi saluran pencernaan yang disebabkan oleh *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Keberadaan residu NF pada produk peternakan akan menyebabkan gangguan kesehatan bagi manusia yang mengkonsumsi produk pangan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis residu NF pada daging ayam menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) serta mengetahui keberadaannya pada sampel yang dikoleksi dari pasar tradisional dan supermarket di Bandung, Bogor dan Depok. Hasil uji validasi metoda untuk beberapa parameter pengujian untuk masing-masing NF memperlihatkan bahwa hasil rata-rata simpangan baku relatif (SBR) dari uji kesesuaian sistem sebesar 2,15 hingga 2,38%, R^2 dari uji linieritas sebesar 0,9964 hingga 0,9995; uji perolehan kembali sebesar 75,90 hingga 91,50% dan deteksi limit sebesar 12,01 hingga 37,25 ng/g. Hasil pengujian terhadap 42 sampel lapang menunjukkan bahwa 2 sampel positif terhadap NFZ (9,09 dan 10,74 ng/g), 1 sampel positif terhadap NFT (10,46 ng/g), 4 sampel positif terhadap FTD (16,44 hingga 27,21 ng/g) dan tidak ada sampel positif terhadap FZD. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa residu NF dalam daging ayam dapat dianalisis menggunakan KCKT dan hasil analisis terhadap 42 sampel lapang menunjukkan adanya sampel positif mengandung residu NF baik dalam bentuk tunggal maupun campuran yang mengindikasikan adanya penggunaan NF pada ayam pedaging yang berpotensi menyebabkan gangguan kesehatan bagi manusia sehingga perlu ditingkatkan pengawasan dalam penggunaannya pada hewan ternak di Indonesia.

Kata Kunci: Deteksi, Residu, Nitrofuram, Daging Ayam, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

PENDAHULUAN

Furazolidon (FZD), furaltadon (FTD), nitrofurantoin (NFT) dan nitrofurazon (NFZ) merupakan obat hewan yang masuk dalam kelompok nitrofuram (NF) yang mengandung cincin 5-nitrofuram. NF banyak digunakan

sebagai antibakteri yang efektif melawan infeksi saluran pencernaan yang disebabkan oleh *Salmonella* spp., coliform, *Mycoplasma* spp., *Coccidia* spp. dan berbagai protozoa lainnya serta sebagai pemacu pertumbuhan.

NF telah dilarang penggunaannya di negara-negara Uni Eropa sejak tahun 1995 (EC, 2003) juga di

Amerika (DAVIS *et al.*, 2009) karena berpotensi menimbulkan efek karsinogenik dan mutagenik terhadap manusia (VASS *et al.*, 2008). Oleh karenanya NF tidak ada batas maksimum residu (BMR), namun sebagai gantinya adalah *minimum required performance limits* (MRPLs) yaitu 1 µg/kg NF dalam produk pangan asal hewan (EC. 2003). Namun untuk di Indonesia, kemungkinan NF masih digunakan (WIDIASTUTI dan YUNINGSIH, 2007) sehingga memiliki batas maksimum residu (BMR) yaitu 50 ng/g untuk nitrofurantoin (NF) dan 100 ng/g untuk furazolidon (FZD) (DEWAN STANDARISASI NASIONAL, 2000).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa NF akan termetabolisir dengan cepat dan membentuk metabolit 3-amino-2-oxazolidone (AOZ) yang berasal dari FZD, 3-amino-5-morpholino-methyl-2-oxazolidinone (AMOZ) yang berasal dari FTD, 1-aminohydantoin (AHD) yang berasal dari NFT serta semicarbazide (SEM) yang berasal dari NFT. Metabolit-metabolit tersebut terikat pada protein dan bertahan lama dalam jaringan tubuh hewan percobaan (McCRACKEN, *et al.*, 2000) dan biasanya dideteksi menggunakan kromatografi cair tandem spektrofotometri massa (KCKT-MS-MS) (RODZIEWICZ, 2007) yang berharga sangat mahal. Namun demikian, senyawa induk dari golongan NF dalam jaringan tubuh (*muscle*) dapat dideteksi menggunakan KCKT (*liquid chromatography*) (KUMAR *et al.*, 1994; SOUZA *et al.*, 2001) bahkan metabolitnya dapat dideteksi secara ELISA (VASS *et al.*, 2009 dan YIBAR *et al.*, 2012).

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan analisis residu NF dalam daging ayam pedaging menggunakan metoda yang telah dikembangkan oleh KUMAR *et al.* (1994) secara KCKT serta untuk mengetahui kandungan residu NF dalam daging ayam yang dikoleksi dari berbagai pasar tradisional maupun supermarket di daerah Bandung, Depok dan Bogor.

MATERI AND METODE

Pengumpulan sampel

Pengumpulan 42 sampel daging ayam dilakukan pada bulan Agustus 2006. Sampel berupa 0,25 kg daging ayam (bagian dada bebas tulang) dibeli dari berbagai pasar tradisional maupun swalayan di wilayah Bandung, Bogor dan Depok. Sampel disimpan dalam kantong plastik tahan es, diberi label dan disimpan -20°C dalam refrigerator hingga siap dianalisis.

Bahan kimia dan reagen

Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi adalah analytical grade, asetonitril (HPLC grade, Merck). Standar yang digunakan adalah furazolidon (FZD),

furaltadone (FTD), nitrofurantoin (NFT) dan nitrofurazon (NFZ) berasal dari Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA). Air yang digunakan adalah double distilled water.

Ekstraksi dan pemurnian sampel (KUMAR *et al.*, 1994)

Sejumlah 10 g sampel daging ayam yang telah dicincang halus dan dihomogenkan, diekstraksi dengan menambahkan 10 g natriumsulfat anhidrat (p.a., Merck) dan kemudian ditambah dengan 40 ml campuran diklorometana-etil asetat (p.a. Merck) (1:1). Selanjutnya sampel disonikasi selama 10 menit dan disentrifus selama 5 menit (1600 rpm). Kemudian sampel disaring dan diambil filtratnya melalui *glass wool*. Tahapan ekstraksi di atas diulang sebanyak 3 kali dan filtrat-filtratnya digabungkan dan dievaporasi pada suhu 45°C hingga mendekati kering. Kemudian ke dalam ekstrak yang hampir kering tadi ditambahkan 30 ml diklorometana dan dievaporasi kembali hingga kering. Ekstrak residu kemudian dilarutkan kembali dengan menambahkan 5 ml diklorometana dan 5 ml petroleum benzena dan dimasukkan ke dalam kolom Bond-Elut SPE Sep-Pak silika (Varian Inc., USA) yang sebelumnya telah dikondisikan dengan 2 ml petroleum benzena. Kolom dibilas dengan 4 ml diklorometana: petroleum benzena (1:1). Atur kecepatan alir SPE Sep-Pak silika pada 3 tetes/detik. Cuci kolom SPE dengan 5 ml petroleum benzena dan biarkan kolom mengering selama 15 menit larutan dibuang. Kolom dielusi dengan 15 ml metanol dilanjutkan dengan 10 ml etil asetat-metanol (1:1) ditampung dalam 25 mL labu florentin dan kemudian dikeringkan residunya menggunakan rotavapor pada 45°C.

Deteksi NF secara KCKT

Ekstrak sampel kering dilarutkan dengan 500 µL larutan fase gerak dan disaring menggunakan 0,45 µm (13 mm) Acrodisc LC PVDF filter (Waters Corp., USA). Kemudian sebanyak 40 µL larutan uji disuntikkan ke dalam alat KCKT Hitachi L-7000 (Hitachi, Inc, Japan) yang dilengkapi dengan UV detektor dan dipisahkan menggunakan kolom µ-Bondapak RP₁₈ (Waters, Corp., USA) dengan fasa gerak campuran natrium asetat (0,005 M, pH 4,5) dan asetonitril (HPLC grade) (78:22) dan dideteksi pada panjang gelombang 362 nm.

Validasi metoda

Beberapa parameter validasi metoda (presisi, linearitas, uji perolehan kembali, batas deteksi dan batas kuantitasi) diuji terlebih dahulu sebelum diaplikasikan untuk menganalisis sampel lapang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Performa deteksi NF secara KCKT

Kromatogram pemisahan campuran beberapa standar NF yang terlihat pada Gambar 1 menunjukkan urutan waktu retensi untuk masing-masing NF adalah 7,18 menit untuk NFZ; 8,74 menit untuk NFT; 11,12 menit untuk FZD dan 12,60 menit untuk FTD, dengan resolusi (Rs) yang didefinisikan sebagai perbedaan antara waktu retensi 2 puncak yang saling berdekatan dibagi dengan rata-rata lebar puncak, dimana nilai $R_s \geq 1,5$ untuk memberikan pemisahan puncak yang baik antar masing-masing NF yang berdekatan.

Langkah awal dari penelitian ini adalah melakukan validasi metode yang bertujuan untuk memastikan dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut sudah sesuai untuk peruntukannya. Beberapa parameter utama yang harus dilakukan diantaranya adalah uji kesesuaian sistem (dihitung dalam simpangan baku relatif, RSD), uji linearitas (dihitung dalam R^2) dan uji perolehan kembali (dihitung dalam %) dan menentukan nilai batas deteksi dengan ringkasan dapat dilihat pada Tabel 1.

Nilai simpangan baku relatif (RSD) yang digunakan untuk menentukan uji kesesuaian sistem yang diperoleh pada penelitian ini masih dalam kisaran 2% menunjukkan bahwa alat KCKT berfungsi dengan baik. Nilai koefisien korelasi (R^2) dari uji linearitas untuk masing-masing NF memiliki nilai $\geq 0,99$ atau nilai ideal mendekati 1 sesuai dengan yang dipersyaratkan. Sementara itu, hasil uji perolehan kembali berkisar antara 75,90 hingga 91,50%, menunjukkan bahwa metode yang digunakan cukup baik dan masih dalam

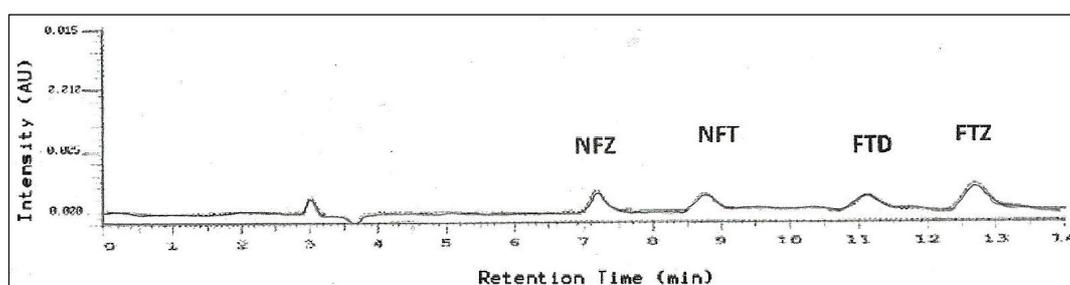
kisaran 80 hingga 110% yang masih lebih baik dibandingkan dengan perolehan KUMAR, *et al.* (1994) yaitu berkisar antara 66 hingga 128%. Limit deteksi yang diperoleh yaitu 18,3 ng/g untuk NFZ; 12,01 ng/g untuk NFT; 19,33 ng/g untuk FZD dan 37,25 ng/g untuk FTD, masih jauh dibandingkan dengan MRPL yang dipersyaratkan 1 ng/g. Untuk konsentrasi sampel dengan nilai $<50\%$ dari nilai limit deteksi akan dinyatakan sebagai tidak terdeteksi

Analisis sampel lapang

Gambar 2 merupakan kromatogram dari sampel asal Bandung yang positif terdeteksi adanya NF. Pemisahan terlihat baik dan tidak ada pengotor yang mengganggu pemisahan.

Hasil analisis residu NF pada 42 sampel lapang yang diperlihatkan pada Tabel 2 dan Gambar 3 menunjukkan tidak adanya residu NF jenis apapun pada sampel asal Bogor dan Depok dan ditemukannya 6 sampel asal Bandung yang mengandung residu NF baik dalam sebagai residu NF tunggal maupun kombinasi terkecuali untuk residu FZD (furazolidon). Jenis residu yang ditemukan adalah NFZ pada 2 sampel (4,76%) dengan konsentrasi 9,09 dan 10,74 ng/g, NFT pada 1 sampel (2,38%) sebesar 10,46 ng/g, dan FTD pada 4 sampel (9,52%) dengan kisaran 16,44-27,21 ng/g.

Gambar 3 juga menunjukkan sebaran jenis dan konsentrasi residu NF yang terdeteksi pada sampel positif asal Bandung. Terlihat adanya 4 sampel (kode 3, 4, 9 dan 10) mengandung residu NF tunggal yaitu residu FTD atau NFZ dan 2 sampel (kode 5 dan 6) mengandung 2 jenis residu NF campuran yaitu sampel



Gambar 1. Kromatogram campuran standar NFZ (0,10 µg/ml), NFT (0,05 µg/ml), FZD (0,10 µg/ml) dan FTD (0,20 µg/ml)

Tabel 1. Performa beberapa parameter uji validasi metoda deteksi NF dalam daging ayam

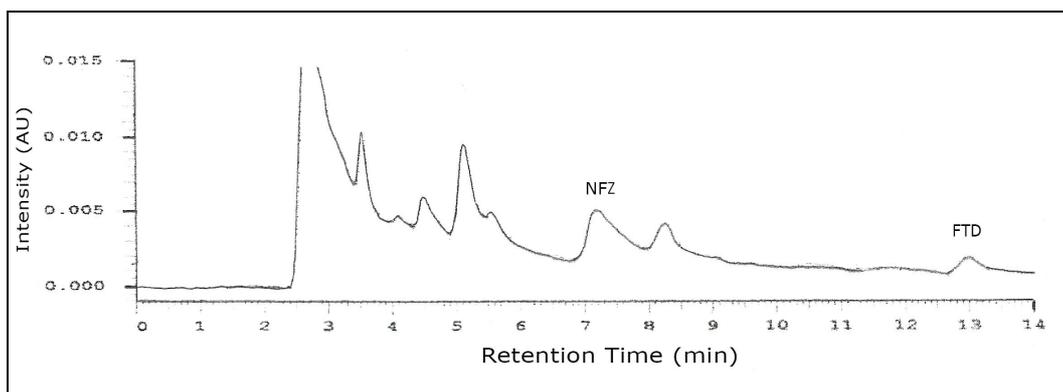
Parameter	NFZ	NFT	FZD	FTD
RSD (%)	2,18	2,38	2,31	2,15
R^2	0,9964	0,9991	0,9984	0,9975
Uji perolehan kembali (%)	90,05	85,13	75,90	91,50
Limit deteksi (ng/g)	18,3	12,01	19,33	37,25

berkode 5 ditemukan adanya residu FTD dan NFZ, dan sampel berkode 6 ditemukan adanya residu NFT dan NFZ. Total konsentrasi NF tertinggi ditemukan pada sampel berkode 5 yaitu 30 ng/g dan diikuti oleh sampel berkode 10 dengan ditemukannya residu FTD lebih dari 25 ng/g.

Terdeteksinya residu NF kemungkinan disebabkan oleh adanya pemberian NF yang berlebihan dan tidak rasional (DAVIS *et al.*, 2009), karena sesungguhnya NF secara *in vivo* merupakan senyawa yang sangat mudah terurai dalam jaringan tubuh namun metabolitnya bertahan sangat lama pada jaringan tubuh dan hati (COOPER *et al.*, 2008) dengan waktu paruh rata-rata dari metabolitnya sekitar 3,4 hingga 5,6 hari. Alasan lain terdeteksinya residu dalam produk pangan asal hewan kemungkinan berasal dari *carry over* dalam pembuatan pakan yang mengandung imbuhan obat hewan pada proses sebelumnya (MCEVOY, 2002) karena NF dapat ditambahkan dalam pakan ataupun air minum hewan dalam kisaran konsentrasi 8 hingga 400 mg/kg. Sementara itu, pada sampel yang tidak

terdeteksi NF kemungkinan karena hewan memang tidak mendapatkan pengobatan dengan NF jenis apapun atau NF yang digunakan telah berubah menjadi bentuk metabolitnya.

Ditemukannya residu NF pada sampel daging ayam pedaging memperkuat laporan sebelumnya (WIDIASTUTI dan YUNINGSIH, 2007) mengenai ditemukannya residu NF pada telur ayam petelur yang berasal dari wilayah yang sama yang mengartikan bahwa NF tidak hanya digunakan oleh peternak ayam petelur namun juga oleh peternak ayam pedaging. Hasil yang digambarkan pada Gambar 3 juga memperlihatkan adanya peternak yang menggunakan lebih dari 1 jenis obat hewan, yang seharusnya tidak diijinkan. Namun, bila hasil analisis tersebut dibandingkan terhadap BMR yang ada di Indonesia BMR yaitu sebesar 50 ng/g, maka sampel-sampel yang positif tersebut belum melampaui BMR, namun bila diperuntukkan untuk diekspor ke negara-negara yang sudah melakukan pelarangan penggunaan NF, hasil yang diperoleh sudah melampaui MRPL yaitu 1 ng/g.



Gambar 2. Kromatogram pemisahan sampel (kode sampel 5) asal Bandung dengan kandungan residu NFZ 10,74 ng/g dan FTD 19,25 ng/g, namun tidak terdeteksi untuk NFT dan FZD.

Tabel 2. Kandungan residu nitrofurazon (NFZ), nitrofurantoin (NFT), furazolidon (FZD) dan furaltadon (FTD) dalam daging ayam sampel lapang dari Bandung, Depok dan Bogor

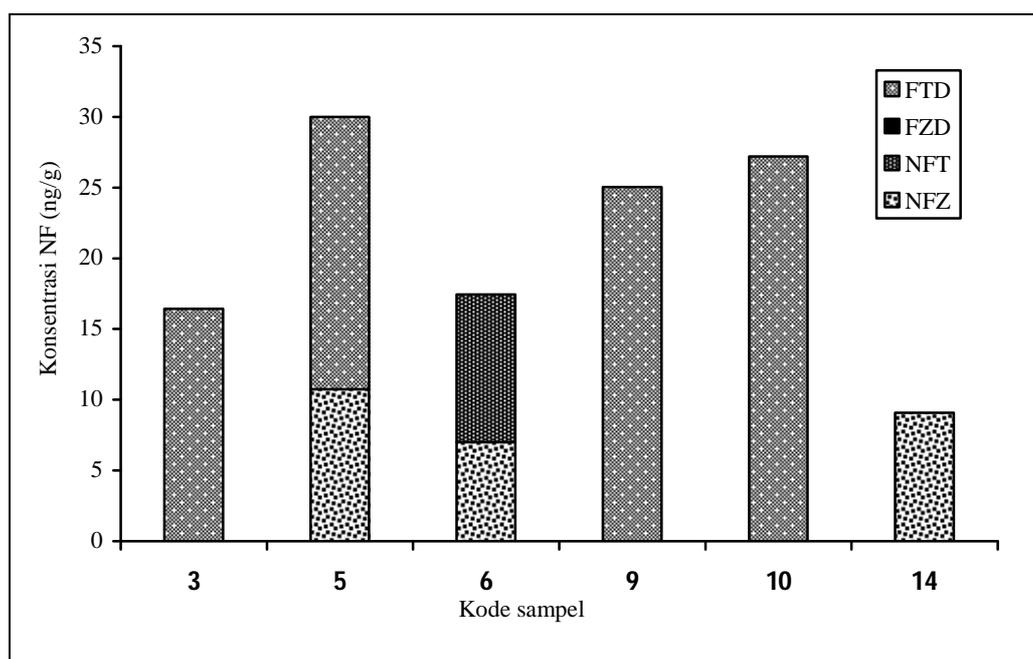
Asal sampel	Jumlah sampel	Jumlah dan konsentrasi sampel positif (ng/g)			
		NFZ	NFT	FZD	FTD
Bandung	20	2 (9,09 dan 10,74)	1 (10,46)	tt	4 (16,44 – 27,21)
Depok	9	tt	tt	tt	tt
Bogor	13	tt	tt	tt	tt
Total	42	2 (9,90 dan 10,74)	1 (10,46)	tt	4 (16,44 – 27,21)

Tt = Tidak terdeteksi untuk NFZ \leq 9,15 ng/g

NFT = \leq 6,00 ng/g

FZD = \leq 9,66 ng/g

FTD = \leq 18,62 ng/g



Gambar 3. Distribusi residu NF pada beberapa sampel asal Bandung

Keberadaan senyawa induk residu NF perlu mendapat perhatian, karena memungkinkan terbentuknya metabolit NF yang dapat bertahan lebih lama, terutama pada organ mata yang bertahan lebih lama dibandingkan pada jaringan tubuh ataupun organ lainnya. Metabolit AHD pada organ mata memiliki waktu paruh selama 8,5 hari, sedangkan SEM 20,3 hari. Oleh karenanya perlu juga dipertimbangkan untuk mendeteksi NF maupun metabolitnya dalam sampel retina ayam pedaging yang dibuktikan dengan ditemukannya residu FTD 21 hari pasca pemberian pakan mengandung 6 mg/kg FTD (COOPER *et al.*, 2008).

Metabolit-metabolit tersebut tidak berkurang akibat proses pemasakan maupun penyimpanan dalam waktu lama (COOPER dan KENNEDY, 2007) yang tentunya dalam jangka panjang berefek terhadap kesehatan manusia. Namun untuk pendeteksian metabolit ini diperlukan instrumen yang peka seperti KCKT-MS-MS (RODZIEWICZ, 2007) karena instrumen KCKT yang digunakan tidak mampu mendeteksi NF kurang dari 1,0 ng/g

Upaya terpenting untuk mencegah atau mengurangi terdeteksinya residu adalah pengawasan penggunaan obat hewan di samping melakukan monitoring keberadaan kontaminan NF dalam pakan karena hal ini merupakan salah satu penyumbang penyebab keberadaan residu dalam produk peternakan, bahkan kotoran ayam yang terkontaminasi FZD dari ayam yang diberi 3 mg/kg FZD, juga berpotensi

menimbulkan residu metabolit AOZ sebesar 0,13 ug/kg dalam hati dan 0,10 ug/kg dalam daging (MCCRACKEN *et al.*, 2005).

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa residu nitrofurans (NF) berupa furazolidon (FZD), furaltadon (FTD), nitrofurantoin (NFT) dan nitrofurazon (NFZ) dalam daging ayam dapat dianalisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan hasil rata-rata RSD dari uji kesesuaian sistem sebesar 2,15 hingga 2,38%, R^2 dari uji linieritas sebesar 0,9964 hingga 0,9995; uji perolehan kembali sebesar 75,90 hingga 91,50% dan deteksi limit sebesar 12,01 hingga 37,25 ng/g. dan hasil analisis terhadap 42 sampel lapang menunjukkan adanya beberapa sampel yang positif terdeteksi adanya NF pada ayam pedaging. Meskipun temuan ini belum melampaui batas maksimum residu (BMR) yang ditetapkan di Indonesia, namun hal ini mengartikan bahwa NF juga digunakan oleh peternak ayam pedaging. Oleh karenanya perlu mendapat ketegasan dari pemerintah apakah penggunaan NF ini diperbolehkan atau dilarang untuk digunakan dalam bidang peternakan unggas.

Keberadaan residu ini yang berpotensi menyebabkan gangguan kesehatan bagi manusia sehingga perlu ditingkatkan pengawasan dalam

penggunaannya pada hewan ternak serta melakukan monitoring kontaminan dalam imbuhan pakannya. Di samping itu penggunaan KCKT-MS-MS akan sangat membantu untuk mengetahui keberadaan residu metabolit NF yang keberadaannya lebih lama dibandingkan dengan senyawa induknya, terutama untuk konsentrasi kurang dari 1,0 ng/g.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Kepala Balai Besar Penelitian Veteriner beserta jajarannya, Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Bandung, Kepala Dinas Peternakan Kota Bandung, Kepala Dinas Pertanian Kodya Depok dan Kepala Dinas Pertanian Kabupaten Bogor yang telah memfasilitasi penelitian ini.

Ucapan terima kasih ini juga disampaikan kepada Goklas Dodi Napitupulu dari Jurusan Farmasi FMIPA Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN), Jakarta serta Rachmat Firmansyah, SSi dari Laboratorium Toksikologi, Balai Besar Penelitian Veteriner yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- BARBOSA, J., S. MOURA, R. BARBOSA, F. RAMOS and M.I.N. DA SILVEIRA. 2007. Determination of nitrofurans in animal feeds by liquid chromatography-UV photodiode array detection and liquid chromatography-ion spray tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 586: 359-365.
- COOPER, K.M. and D.G. KENNEDY. 2007. Stability studies of the metabolites of nitrofurans antibiotics during storage and cooking. *Food Addit. Contam.* 24: 935-942.
- COOPER, K.M., R.J. McCRACKEN, M. BUURMAN and D.G. KENNEDY. 2008. Residues of nitrofurans antibiotic parent compounds and metabolites in eyes of broiler chickens. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo Risk Assess.* 25: 548-556.
- DAVIS, J., G.W. SMITH, R.E. BAYNES, L.A. TELL, A.I. WEBB and J.E. RIVIERE. 2009. Update on drugs prohibited from extralabel use in food animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 235: 528-534.
- DEWAN STANDARISASI NASIONAL (DSN). 2000. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Batas Maksimum Residu dalam Bahan Makanan asal hewan. SNI. No. 01. 6366.2000.
- EUROPEAN COMMISSION (EC). 2003. Commission Decision 2003/181/EC of 13 March 2003 amending decision 2002/657/EC as regards the setting minimum required performance limits (MRPLs) for certain residues in food of animal origin. *Off. J. Eur. Commun.* L71: 17-18.
- KUMAR, L, J.R. TOOTHILL and K.B. HO. 1994. Determination of nitrofurans residues in poultry muscle tissues and eggs by liquid chromatography. *J. AOAC Int.* 77: 591-595.
- McCRACKEN, R.J., J.A. VAN RHIJN and D.G. KENNEDY. 2005. The occurrence of nitrofurans metabolites in the tissues of chickens exposed to very low dietary concentrations of the nitrofurans. *Food Addit. Contam.* 22: 567-72.
- MCCRACKEN, R.J., M.A. MCCOY and D.G. KENNEDY. 2000. Furazolidone residues in pigs: Criteria to distinguish between treatment and contamination. *Food Addit. Contam.* 17: 75-82.
- MCEVOY, J.D.G. 2002. Contamination of animal feedingstuffs as a cause of residues in food: A review of regulatory aspects, incidence and control. *Analytica Chimica Acta* 473: 3-26.
- RODZIEWICZ, L. 2007. Determination of nitrofurans metabolites residues in animal tissues by LC-MS/MS method. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 58: 625-632.
- SOUZA, S.V.C., G. SILVA, M.H.G.M. DINIZ, E.V. SANTOS, J.A. LIMA and J.C. TEODORO. 2001. Determination of nitrofurazone, furazolidone and nicarbazin residues in animal tissues. *Ciênc. Technol. Aliment. Campinas.* 21: 34-38.
- VASS, M., I. DIBLIKOVA, E. KOK, K. STASTNY, K. FRGALOVA, K. HRUSKA and M. FRANEK. 2009. In-house validation of an ELISA method for screening of semicarbazide in eggs. *Food Addit. Contam.* 25: 930-936.
- VASS, M., K. HRUSKA and M. FRANEK. 2008. Nitrofurans antibiotics: a review on the application, prohibition and residual analysis. *Veterinarni Medicina.* 53: 469-500.
- WIDIASTUTI, R. dan YUNINGSIH. 2007. Residu nitrofurans pada telur ayam ras yang dijual di beberapa pasar di Jawa Barat. *Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007.* Bogor, 21-22 Agustus 2007. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 583-587.
- YIBAR, A., F. CETINKAYA and G.E. SOYUTEMIZ. 2012. Nitrofurans metabolite 3-amino-2-oxalidinone residues in chicken liver: a screening study. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 7: 346-350.