

VALIDASI METODE ANALISIS KANDUNGAN SPESIFIK RESIDU TOTAL MONOMER STIREN PADA KEMASAN POLISTIREN

(ANALYTICAL METHOD VALIDATION OF THE TOTAL RESIDUAL STYRENE MONOMER IN POLYSTYRENE PACKAGING)

Dina Mariana^{1,2} Nuri Andarwulan,^{1,3} dan Hanifah Nuryani Lioe¹

¹)Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²)Direktorat Pengawasan Produk dan Bahan Berbahaya, Badan Pengawas Obat dan Makanan (Badan POM)

³)*Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology Center (SEAFST Center)*, Institut Pertanian Bogor, Bogor

E-mail : nuri@seafast.org

Received: 5 Juni 2013; revised: 12 September 2013; accepted: 13 September 2013

ABSTRAK

Monomer stiren merupakan bahan dasar kemasan pangan yang menjadi isu perhatian terkait keamanan pangan. Saat ini di dalam peraturan nasional maupun internasional, peraturan persyaratan pada total residu dari monomer stiren dalam kemasan pangan. Dalam rangka menunjang pengawasan kemasan pangan polistiren, maka diperlukan peningkatan kapasitas pengujian kandungan spesifik residu total monomer stiren di laboratorium sesuai dengan peraturan yang berlaku. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode analisis pengujian kandungan spesifik residu total monomer stiren pada kemasan polistiren dengan heptana sebagai simulan pangan menggunakan kromatografi gas dengan pendeteksi ionisasi nyala, sesuai prosedur uji yang diatur dalam Peraturan Kepala Badan POM Nomor HK.03.1.23.07.11.6664 Tahun 2011 tentang Pengawasan Kemasan Pangan. Hasil validasi metode analisis adalah linieritas dengan persamaan regresi $y = 0,186x$ nilai $R^2 = 0,999$, presisi dengan nilai Relatif Standar Deviasi (RSD) = 0,93 %, akurasi dengan persen perolehan kembali (% recovery) $98,04 \pm 2,62$ %, pada konsentrasi stiren yang ditambahkan 502 $\mu\text{g/g}$ dan selektivitas yang baik.

Kata kunci : Stiren, polistiren, heptana, simulan pangan, kromatografi gas

ABSTRACT

Styrene monomer is one of the food contact substances that becomes a concern in food packaging safety. Currently the national and international regulation of styrene monomer in polystyrene is on the total residual styrene monomer and not for a Specific Migration Limit (SML). In order to support the food safety control of polystyrene as food packaging, it is necessary to increase the capacity of national testing laboratories to conduct the analysis of total residual styrene monomer according to the existing regulations. This research aim was to conduct the analytical method validation of the determination of total residual styrene monomer in polystyrene packaging by gas chromatography - flame ionization detector (GC-FID) with heptane as a food simulant in accordance to the Decree of The Head of National Agency of Drug and Food Control Republic of Indonesia No. HK.03.1.23.07.11.6664 2011 on Food Packaging Control. Results of analytical method validation exhibited the method linearity with regression equation of $y = 0.186x$ and coefficient of determination (R^2) at 0.999, precision with a Relative Standard Deviation (RSD) at 0.93 %, accuracy at 98.04 ± 2.62 %, by recovery test with spiking concentration of styrene 502 $\mu\text{g/g}$ sample and having good selectivity.

Keywords: Styrene, polystyrene, heptane, food stimulant, gas chromatography

PENDAHULUAN

Isu keamanan kemasan pangan merupakan salah satu isu penting keamanan pangan yang mendapat perhatian di dunia. Isu keamanan kemasan pangan tersebut dikarenakan adanya kemungkinan perpindahan komponen dari kemasan ke dalam pangan (migrasi) dan dapat menimbulkan efek negatif terhadap kesehatan konsumen. Regulasi beberapa negara di Eropa menetapkan tiga persyaratan bahan yang bermigrasi dari kemasan ke dalam bahan pangan yang dikemas yaitu tidak membahayakan kesehatan manusia, tidak menyebabkan perubahan yang tidak diinginkan terhadap komposisi pangan (sebagai kontaminan) dan tidak menyebabkan perubahan karakteristik organoleptik pangan (Grob, *et al.* 2009).

Salah satu jenis kemasan plastik yang banyak digunakan di Indonesia adalah polistiren. Polistiren merupakan senyawa polimer dengan bahan dasar stiren sebagai monomernya. Kemasan polistiren mempunyai keuntungan dapat berbentuk kaku, film dan busa. Polistiren dalam aplikasinya digunakan antara lain sebagai kemasan pelindung untuk telur, wadah, tutup gelas, cangkir, piring, botol, dan nampan makanan (Marsh and Bugusu 2007). Dalam penelitian, stiren dan senyawa aromatik lainnya ditemukan pada air panas dalam kemasan polistiren busa dan polistiren gelas (Ahmad and Bajahlan 2006). Selain faktor suhu, peningkatan migrasi bahan kemasan pangan ke dalam pangan juga dipengaruhi oleh lamanya kontak dengan pangan selama penyimpanan (Amirshaghghi, *et al.* 2011). Migrasi stiren juga dipengaruhi oleh jenis pangan yang kontak langsung dengan wadah polistiren, sehingga dalam menentukan kajian paparan stiren dalam suatu kelompok masyarakat, diperlukan data jenis pangan yang dikemas dalam kemasan polistiren tersebut (Duffy, *et al.* 2006). Dalam penelitian migrasi stiren dalam minyak kedelai, dihasilkan bahwa residu stiren dalam minyak kedelai tersebut terdeteksi sekitar 0,1 %, dan hasil penelitian dapat lebih besar jika dibandingkan dengan hitungan teoritis dari *diffusion-type equations* (Miltz and Rosen-Doody 2007).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa konsentrasi senyawa stiren yang bermigrasi ke dalam pangan dapat dianalisis antara lain dengan menggunakan kromatografi gas dengan pendeteksi nyala ion (*Gas Chromatography-Flame Ionization Detector/ GC-FID*), kromatografi cair kinerja tinggi (*High Performance Liquid Chromatography/ HPLC*) maupun

kromatografi gas-spektrometri massa (Gas Chromatography Mass Spectrometry/ GC-MS) (Sanagi, *et al.* 2008; Choi, *et al.* 2005; Saim, *et al.* 2012; Ahmad and Bajahlan 2006).

Senyawa stiren yang bermigrasi tersebut berpotensi membahayakan kesehatan manusia antara lain merupakan senyawa karsinogen kelompok 2B (IARC 1994). Monomer stiren juga berpotensi melemahkan aktivitas estrogen, yang dapat mengganggu jalur diferensiasi seks gonad pada hewan spesies *Rana rugosa* (Ohtani, *et al.* 2001) dan meningkatkan nekrosis sel mononuklear tali pusar manusia (Diodovich, *et al.* 2009). Paparan stiren pada dosis tinggi juga dapat menyebabkan efek genotoksik. Efek terhadap *Deoxyribonucleic Acid (DNA)* tersebut tergantung pada tingkat paparan dari sel target, aktivasi metabolisme oksida dari stiren dan efisiensi detoksifikasinya (Speit and Henderson 2005). Dalam penelitian pemberian stiren trimer pada tikus yang sedang hamil dapat menyebabkan aktivitas estrogenik, sehingga mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan organ genital pada keturunan tikus jantan (Ohyama, *et al.* 2007), penelitian lain juga menyebutkan bahwa stiren trimer dapat meningkatkan hormon tiroid (Yanagiba, *et al.* 2008).

Berdasarkan fakta tersebut, maka pengawasan terhadap kemasan pangan sangat diperlukan, karena terkait langsung dengan keamanan pangan yang beredar. Pengawasan tersebut dilakukan melalui sampling dan pengujian laboratorium. Badan Pengawas Obat dan Makanan telah menerbitkan Peraturan Kepala Badan POM Nomor HK.03.1.23.07.11.6664 Tahun 2011 tentang Pengawasan Kemasan Pangan. Di dalam peraturan tersebut antara lain mengatur bahan yang dilarang dan diizinkan digunakan sebagai kemasan pangan berikut persyaratan migrasi dan prosedur pengujiannya serta simulasi pangan yang digunakan. Pengujian dengan menggunakan simulasi pangan tersebut merupakan metode pendekatan dengan pangan (Grob 2008).

Dalam rangka mendukung pengawasan kemasan pangan tersebut diperlukan peningkatan kemampuan pengujian kemasan pangan di laboratorium, salah satunya dengan menetapkan metode analisis untuk pengujian kemasan pangan sesuai dengan persyaratan dalam peraturan. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan validasi metode analisis

pengujian kandungan spesifik residu total monomer stiren pada kemasan polistiren dengan heptana sebagai simulan pangan sesuai dengan Peraturan Kepala Badan POM Nomor HK.03.1.23.07.11.6664 Tahun 2011 tentang Pengawasan Kemasan Pangan dengan menggunakan instrumen kromatografi gas dengan pendeteksi ionisasi nyala (*gas chromatography-Flame Ionization Detector/ GC-FID*).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel kemasan kosong polistiren busa berbentuk gelas (*cup*) dengan kapasitas \pm 300 mL yang digunakan untuk mengemas mi instan; baku pembanding stiren (PT. Asahimas Chemicals, Cilegon-Indonesia); 1,2,4,5-tetrametilbenzena sebagai baku pembanding internal (Merck, Jerman); heptana proanalisis (Merck, Jerman) sebagai simulan pangan.

Metode

Metode penelitian yang digunakan terbagi menjadi 3 (tiga) tahap, yaitu (1) tahap persiapan, (2) tahap orientasi prosedur uji dan (3) tahap validasi metode.

Tahap persiapan

Tahap persiapan meliputi penyiapan bahan dan pengecekan unjuk kerja instrumen *GC-FID*. Penyiapan bahan dilakukan dengan membuat larutan baku stiren induk 1004 $\mu\text{g/mL}$ dan larutan baku internal induk 1024 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan pengecekan unjuk kerja instrumen *GC-FID* digunakan sebagai orientasi awal untuk mendeteksi stiren dengan kondisi dan parameter tertentu yaitu menentukan kurva linieritas dan presisi dengan persyaratan linieritas $r > 0,995$ atau $R^2 > 0,990$ (AOAC 2012) dan persyaratan presisi adalah $\text{RSD} < 2,0\%$ (JECFA 2006).

Kurva linieritas instrumen dibuat dari larutan baku kerja dengan 5 (lima) konsentrasi yang berbeda berturut-turut 1,00 $\mu\text{g/mL}$; 2,01 $\mu\text{g/mL}$; 5,02 $\mu\text{g/mL}$; 10,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 20,08 $\mu\text{g/mL}$. Pemilihan konsentrasi terendah tersebut dilakukan dengan uji coba hingga diperoleh konsentrasi dengan luas area yang terdeteksi cukup baik dan dapat terukur oleh *GC-FID* (Shimadzu, Jepang). Masing-masing larutan dengan serial konsentrasi tersebut dibuat dengan memipet 10 μL , 20 μL , 50 μL , 100 μL dan 200 μL dari larutan baku stiren induk konsentrasi 1004 $\mu\text{g/mL}$, ditambah larutan baku internal 50 μL dari larutan baku internal induk 1024 $\mu\text{g/mL}$, kemudian ditambah heptana

hingga tanda batas 10 mL dalam labu takar 10 mL dan dianalisis ke *GC-FID* sebanyak tiga kali (*triplo*). Kurva linieritas instrumen dengan memplotkan rasio area (stiren dan baku internalnya) sebagai sumbu *y* terhadap konsentrasi stiren sebagai sumbu *x*, sehingga diperoleh persamaan linier $y = ax + b$.

Presisi dilakukan dengan memilih satu konsentrasi baku kerja pada penentuan linieritas, dipilih konsentrasi 5,02 $\mu\text{g/mL}$, kemudian diinjeksikan ke *GC-FID* sebanyak 7 (tujuh) kali pengulangan. Kondisi dan parameter *GC-FID* yang digunakan mengacu pada *EU project PIRA* (2003) untuk kondisi suhu oven dan jenis kolom, dimodifikasi dengan penelitian *Paraskevopoulou* (2011) untuk suhu detektor dan injektor seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Kondisi *GC-FID* yang digunakan untuk pengujian monomer stiren dalam kemasan polistiren

Kolom	: Rtx-5 fused-silica column, 30 m x 0,25 mm ID, ketebalan film 0,25 μm R (Varian)
Split ratio	: 1:10 (setelah 5 menit)
Suhu oven	: 40°C selama 2 menit pertama kemudian meningkat 10°C/menit hingga 80°C, 20°C/menit hingga suhu akhir 180°C dan pertahankan selama 1 menit
Gas pembawa	: Helium,
Aliran gas	: 14 mL/menit
Aliran udara	: 400 mL/menit
Aliran hydrogen	: 40 mL/menit
Volume Injeksi	: 1 μL
Suhu FID	: 250°C.
Suhu injector	: 230°C

Dalam pengecekan unjuk kerja instrumen *GC-FID* juga ditentukan *Limit Of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantification (LOQ)* yang diperoleh dari penentuan kurva linieritas instrumen tetapi yang diukur adalah rasio *signal to noise (S/N)* dari respon *GC-FID* untuk masing-masing konsentrasi larutan baku kerja

stiren yang berbeda. Selanjutnya besarnya rasio S/N (sebagai sumbu y) tersebut diplotkan terhadap konsentrasi stiren (sebagai sumbu x) dan dibuat persamaan kurva linier: $y = ax + b$. Berdasarkan kurva tersebut, kemudian dihitung nilai LOD yaitu nilai x pada $S/N = 3,00$, sedangkan nilai LOQ yaitu nilai x pada $S/N = 10,00$.

Tahap Orientasi Prosedur Uji Persiapan sampel kemasan polistiren dan uji kandungan spesifik residu total monomer stiren

Sampel kemasan kosong polistiren busa bentuk gelas pada bagian yang tidak mengandung tinta pewarna dipotong kecil dengan ukuran $\pm 0,50 \times 0,50 \text{ cm}^2$, kemudian ditimbang sebanyak $\pm 0,50$ gram dalam gelas beaker 250 mL. Larutan simulan pangan dibuat dengan mencampurkan baku internal 250 μL dari baku internal induk 1024 $\mu\text{g/mL}$ dan pelarut heptana sebagai simulan pangan hingga tanda batas 50 mL dalam labu ukur. Larutan simulan pangan tersebut kemudian dituangkan ke dalam gelas beaker 250 mL dan dimasukkan ke dalam *waterbath* pada 49 °C. Setelah sekitar 10 menit larutan simulan sudah mencapai suhu 49 °C (diukur dengan termometer untuk memastikan), kemudian dituangkan ke dalam gelas beaker yang berisi sampel polistiren, tutup dengan gelas arloji dengan diameter hampir sama dengan diameter gelas beaker, sehingga sampel dalam keadaan terendam sempurna dalam larutan simulan pangan. Gelas beaker tersebut kemudian ditutup dengan menggunakan cawan petri yang berdiameter lebih besar daripada diameter gelas beaker dan segera dimasukkan ke dalam *waterbath* pada 49 °C suhu selama 15 menit. Kemudian sampel dipisahkan dari larutan simulan pangan. Larutan simulan pangan ini kemudian disebut larutan uji. Persiapan larutan uji tersebut dilakukan ulangan sebanyak 3 (tiga) kali.

Analisis konsentrasi stiren dalam sampel dari larutan uji

Larutan uji dianalisis dengan *GC-FID* sebanyak 2 (dua) kali analisis. Rasio luas area stiren dan luas area baku internal dari larutan uji digunakan untuk menghitung konsentrasi stiren dalam larutan sampel dengan menggunakan persamaan kurva linieritas dari hasil unjuk kerja instrumen.

Tahap Validasi Metode Uji Selektivitas (Selectivity)

Selektivitas dilakukan dengan membuat larutan sampel kemasan polistiren dalam pelarut

heptana, larutan sampel kemasan polistiren dengan penambahan baku internal dalam pelarut heptana dan larutan sampel kemasan polistiren dengan penambahan baku stiren dan baku internal dalam pelarut heptana. Kemudian ke 3 (tiga) larutan tersebut dianalisis dengan *GC-FID* dan hasil kromatogramnya dibandingkan. Selektivitas metode analisis dinyatakan baik jika puncak senyawa stiren maupun baku internal terpisah dengan baik dan kedua puncak tersebut tidak diganggu oleh puncak senyawa cemaran dalam sampel yang terdeteksi dalam kromatogram.

Linieritas (Linearity)

Kurva linieritas metode diperoleh dari analisis larutan baku kerja stiren dengan perlakuan sama seperti larutan uji yaitu perendaman di dalam *waterbath* pada 49 °C selama 15 menit. Larutan baku kerja stiren dibuat dengan 6 konsentrasi baku kerja stiren yang berbeda yaitu 5 konsentrasi sesuai dengan konsentrasi untuk kurva linieritas unjuk kerja instrumen (1,00 $\mu\text{g/mL}$; 2,01 $\mu\text{g/mL}$; 5,02 $\mu\text{g/mL}$; 10,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 20,08 $\mu\text{g/mL}$) dan 1 konsentrasi di bawah hasil pengukuran sampel pada tahap orientasi prosedur uji yaitu 0,50 $\mu\text{g/mL}$. Masing-masing larutan tersebut mengandung baku internal dengan konsentrasi tetap yaitu sekitar 5 $\mu\text{g/mL}$. Kurva linieritas metode dibuat dengan memplotkan rasio area (stiren dan baku internalnya) sebagai sumbu y terhadap konsentrasi stiren sebagai sumbu x , sehingga diperoleh persamaan linier $y = ax + b$. Linieritas metode analisis mempunyai persyaratan $R^2 > 0,990$ atau $r > 0,995$ (AOAC 2012).

Presisi (Precision)

Penentuan presisi metode dilakukan dengan melakukan analisis kadar stiren pada larutan uji dari 0,5 gram sampel kemasan polistiren. Larutan uji dibuat sebanyak 7 (tujuh) ulangan dan dianalisis dengan *GC-FID* masing-masing sejumlah 2 (dua) kali. Masing-masing larutan tersebut mengandung baku internal dengan konsentrasi tetap yaitu sekitar 5 $\mu\text{g/mL}$. Konsentrasi stiren dalam sampel ditentukan dari kurva linieritas metode kemudian ditentukan nilai rata-rata konsentrasinya dan nilai RSD -nya. Persyaratan presisi metode adalah mempunyai nilai RSD sampel kurang dari atau sama dengan $2/3 RSD$ Horwitz dengan rumus RSD Horwitz sebagai berikut :

$$SD (\%) = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

dimana C adalah fraksi konsentrasi dari analit yang terukur dalam sampel

Akurasi (Accuracy)

Penentuan akurasi metode ditentukan dari metoda penentuan presisi, namun selain larutan baku internal juga ditambahkan larutan baku stiren 250 µL dari baku stiren induk kemudian ditambahkan heptana hingga 50 mL. Konsentrasi baku stiren yang ditambahkan tersebut adalah 502 µg/g sampel. Pembuatan larutan tersebut dilakukan 7 (tujuh) ulangan, dan analisis dengan GC-FID sebanyak 2 (dua) kali. Konsentrasi stiren dihitung dengan menggunakan metode kurva linieritas. Perbandingan nilai konsentrasi stiren yang terukur (setelah dikurangi dengan konsentrasi stiren dalam sampel) dengan konsentrasi baku stiren yang ditambahkan merupakan *recovery*. Persyaratan *recovery* berdasarkan AOAC (2012) pada konsentrasi 100 µg/g adalah 85 – 110 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Unjuk Kerja Instrumen GC-FID

Unjuk kerja instrumen GC-FID yang dievaluasi terdiri dari penentuan linieritas, presisi dan LOD/LOQ. Sebelum melakukan linieritas, maka terlebih dahulu mengetahui profil kromatogram dari pelarut heptana, baku stiren dari beberapa konsentrasi dan baku internal. Profil kromatogram baku stiren pada berbagai konsentrasi dan baku internal tersebut untuk mengetahui dan memastikan waktu retensi dari puncak yang dihasilkan. Berdasarkan kromatogram yang dihasilkan, waktu retensi (Rt) dari baku Stiren sekitar menit ke 7 dan waktu retensi (Rt) dari Baku Internal 1,2,4,5-tetrametilbenzena menit ke 10.

Kurva linieritas hasil unjuk kerja instrumen mempunyai persamaan $y = 0,206x - 0,001$ dengan nilai $R^2 = 0,999$. Kurva linieritas ini memenuhi syarat kriteria linieritas instrumen (AOAC 2012). Profil kromatogram dari linieritas unjuk kerja instrumen seperti pada Gambar 1. Dari kromatogram Gambar 2 terlihat beberapa puncak lain selain stiren dan baku internal. Puncak tersebut berasal dari pelarut heptana, karena pelarut heptana yang digunakan pada penelitian ini mempunyai *grade* pro analisis bukan *grade* kromatografi, sehingga kemungkinan terdapat puncak pengotor yang dapat terdeteksi oleh GC-FID. Hasil analisis unjuk kerja instrumen secara lengkap ditampilkan pada Tabel. 2

Orientasi Prosedur Uji

Orientasi prosedur uji mengacu pada Peraturan Kepala Badan POM Nomor HK.03.1.23.07.11.6664 Tahun 2011 tentang

Pengawasan Kemasan Pangan dengan prosedur pengujian yang dipilih pada penelitian ini adalah kondisi pengisian panas atau pasteurisasi diatas 66°C, dengan simulasi pangan heptana. Hasil analisis kadar stiren dalam kemasan pangan polistiren pada orientasi prosedur uji sebanyak 3 ulangan, diperoleh konsentrasi stiren dalam sampel masing-masing adalah 92,61 µg/g; 91,10 µg/g dan 101,4 µg/g dengan rata-rata konsentrasi $94,63 \pm 4,73$ µg/g sampel.

Tabel 2 Hasil analisis unjuk kerja instrumen

Unjuk Kerja Instrumen GC-FID	Hasil	Persyaratan
Linieritas ($y = ax + b$)	$y = 0,206x - 0,001$; $R^2 = 0,999$	$R^2 > 0,990$ (AOAC 2012)
Presisi (RSD %)	- Stiren : RSD waktu retensi = 0,01 %, RSD luas area = 0,61 % - Baku internal : RSD waktu retensi = 0,01 %, RSD luas area = 0,45 %	RSD (%) < 2,0 % (JECFA 2006)
LOD dan LOQ	LOD = 0,40 µg/mL LOQ = 1,34 µg/mL	-

Berdasarkan Peraturan Kepala Badan POM Nomor HK.03.1.23.07.11.6664 Tahun 2011 tentang Pengawasan Kemasan Pangan, batas migrasi spesifik stirena tidak ditetapkan. Dalam peraturan tersebut persyaratan yang ditetapkan adalah kandungan spesifik residu total monomer stiren adalah 1,0 % atau 10000 µg/g dan 0,5 % berat atau 5000 µg/g, sehingga untuk menentukan keamanan suatu kemasan pangan polistiren perlu dihitung nilai asupan harian atau paparan monomer stirena, kemudian hasilnya dibandingkan terhadap nilai [Provisional Asupan Harian Maksimum yang Ditoleransi *Provisional Maximum Tolerable Daily Intake* (PMTDI)] yang ditetapkan oleh *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* tahun 1984, untuk stiren sebesar 0,04 mg/kg berat badan/hari. Perhitungan asumsi paparan sebagai berikut :

$$\text{Paparannya per hari} = \frac{\sum (\text{kadar zat kimia dalam kemasan} \times \text{konsumsi per hari})}{\text{Berat badan}}$$

Asumsi paparan monomer stiren :

Misalkan setiap hari perorang konsumsi 3 cup mi instan, berat kemasan polistiren cup mini kemasan tersebut 5 gram, sehari jumlah

kemasan polistiren cup 15 gram (0,015 kg). Rata-rata kandungan spesifik residu total monomer stiren hasil percobaan adalah 94,63 µg/g sampel (94,63 mg/kg sampel) merupakan hasil perendaman dua sisi dari kemasan (*two side contact*). Untuk menghitung paparan, sesuai dengan kondisi nyata yaitu kemasan kontak satu sisi dengan pangan (*one side contact*), sehingga kadar monomer stiren diperkirakan menjadi setengah dari 94,63 mg/kg sampel yaitu 47,31 mg/kg sampel. Dengan berat badan konsumen rata-rata 55,5 kg (Badan POM 2011).

$$\text{Paparannya per hari} = \frac{47,31 \text{ mg/kg kemasan pangan} \times 0,015 \text{ kg/hari}}{55,5 \text{ kg berat badan}}$$

$$\text{Paparannya per hari} = 0,013 \text{ mg/kg berat badan/hari}$$

Paparan per hari monomer stiren dibandingkan dengan PMTDI :

$$\frac{0,013}{0,04} = 0,32 \text{ kali nilai PMTDI}$$

Validasi Metode Analisis Selektivitas

Selektivitas suatu metode analisis adalah kemampuan metode analisis dapat mengukur konsentrasi analit dengan adanya komponen-komponen lain dalam sampel. Selektivitas dalam penelitian ini dapat ditunjukkan pada Gambar 3. Berdasarkan gambar tersebut, puncak stiren dan baku internal dalam kromatogram sampel baik yang ditambahkan baku stiren maupun baku internal menunjukkan puncak yang terpisah dari puncak lainnya dalam sampel sehingga stiren dapat diukur dengan menggunakan metode analisis ini.

Linieritas

Hasil pengukuran baku kerja stiren pada linieritas metode seperti pada Tabel 3 dan kurva liniertias metode dengan persamaan $y = 0,186x$, dengan $R^2 = 0,999$ (persyaratan $R^2 > 0,990$), memenuhi persyaratan.

Presisi

Hasil uji presisi pada validasi metode analisis seperti pada Tabel 4. Dari tabel 4 diperoleh nilai *RSD* (*Relative Standard Deviation*) dari konsentrasi stiren dalam sampel dengan 7 (tujuh) kali pengulangan yaitu 0,93 %. Perhitungan *RSD* Horwitz, memberikan nilai 8,17 %. Persyaratan presisi validasi metode analisis adalah *RSD* hasil pengukuran analit < 2/3 *RSD* Horwitz, dalam hal ini nilai 2/3 *RSD* Horwitz adalah 5,44 %. Berdasarkan persyaratan tersebut *RSD* hasil pengukuran

stiren dalam sampel 0,93 % nilainya masih kurang dari 2/3 *RSD* Horwitz (5,44 %), sehingga memenuhi syarat presisi validasi metode analisis.

Tabel 3 Konsentrasi baku kerja dan rasio area (stiren dan baku internal) pada uji linieritas metode analisis stiren dengan instrumen GC-FID untuk sampel kemasan polistiren

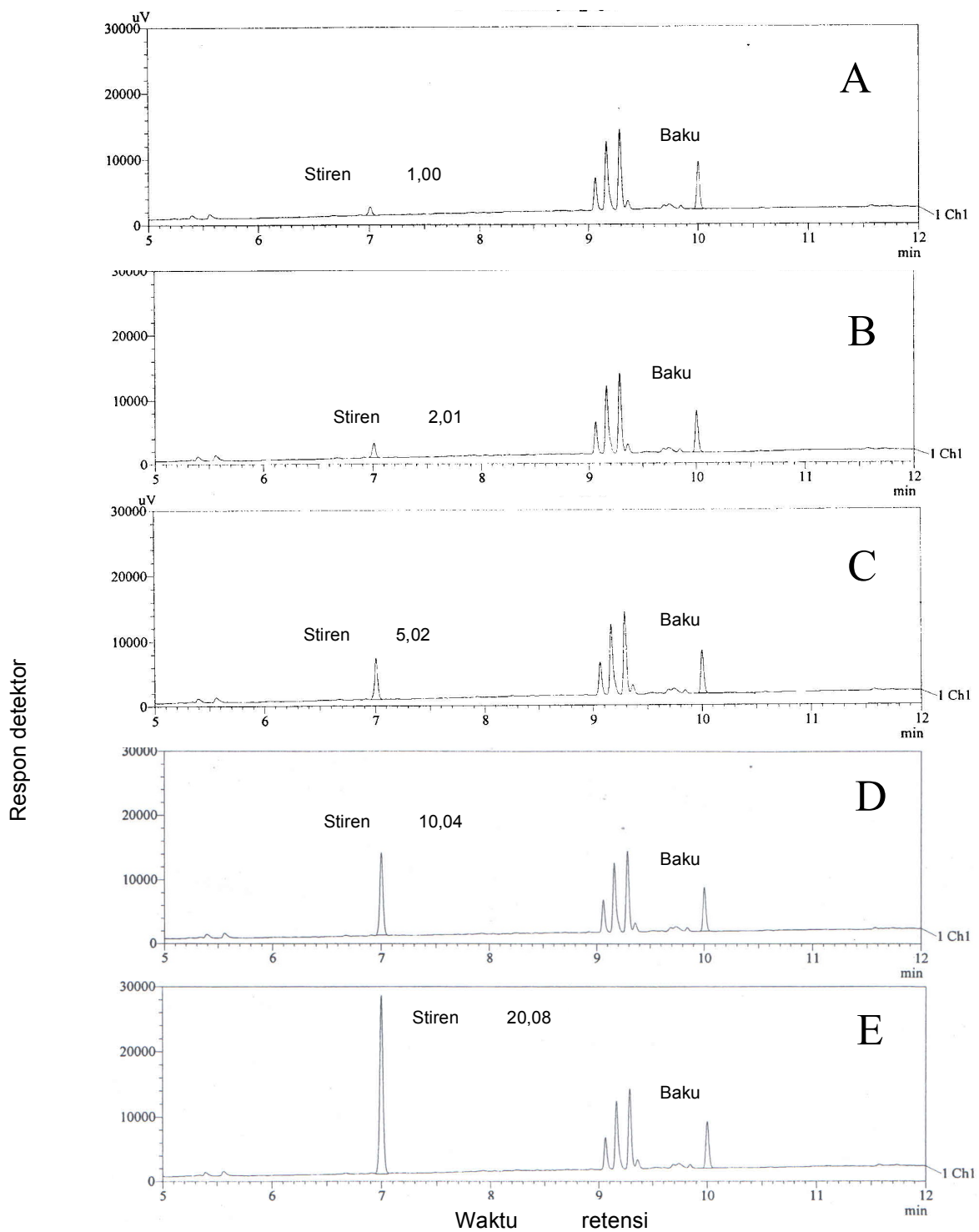
Baku kerja	Konsentrasi baku kerja (µg/mL) (Sumbu x)	Rasio area stiren dan area baku internal (Sumbu y)
Baku kerja 1	0,50	0,12
Baku kerja 2	1,00	0,20
Baku kerja 3	2,01	0,41
Baku kerja 4	5,02	0,87
Baku kerja 5	10,04	1,82
Baku kerja 6	20,08	3,78

Tabel 4 Nilai presisi (*RSD*) hasil uji validasi metode analisis stiren dengan instrumen GC-FID untuk sampel kemasan polistiren.

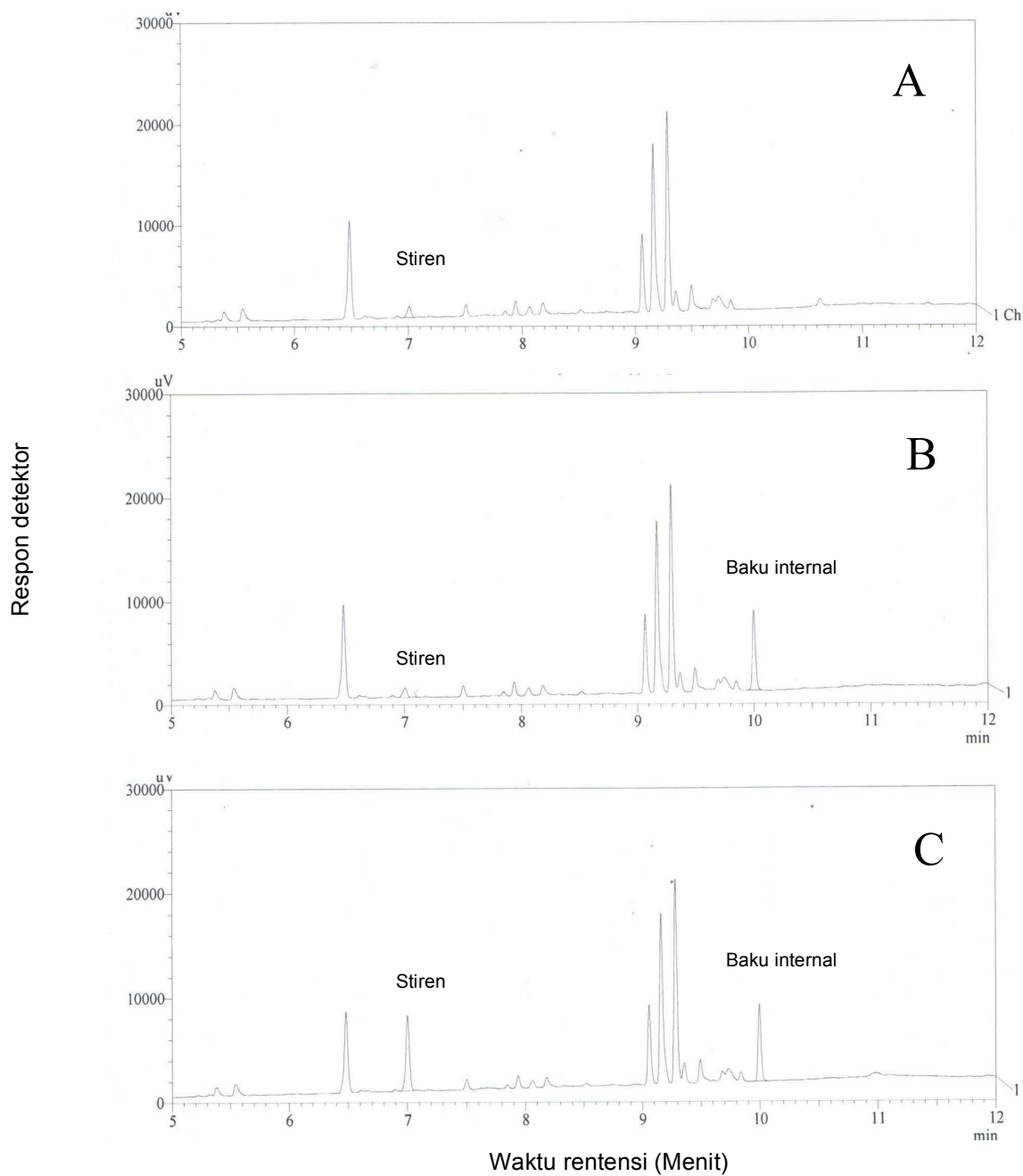
Pengulangan	Konsentrasi stiren dalam sampel (µg/g)
Sampel 1	86,92
Sampel 2	85,63
Sampel 3	87,15
Sampel 4	88,53
Sampel 5	86,79
sampel 6	88,36
Sampel 7	87,47
rata-rata	87,26
SD	0,81
<i>RSD</i> (%), sebagai presisi	0,93

Akurasi

Akurasi menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya yang biasanya dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*). Nilai perolehan kembali (*recovery*) yang diperoleh rata-rata sebesar $98,04 \pm 2,62$ %, dengan rentang 93,37- 101,61 % dengan konsentrasi *spike* baku stiren sebesar 502 µg/mL. Setiap ulangan dihitung % *recovery*-nya seperti pada Tabel 5. Persyaratan persen perolehan kembali (*recovery*) pada validasi metode untuk kandungan analit dalam sampel 100 µg/g adalah 85-110 % (AOAC 2012), sehingga hasil validasi memenuhi persyaratan.



Gambar 1 Kromatogram larutan baku stiren dalam pelarut heptana pada uji linieritas unjuk kerja instrumen yang dianalisis dengan instrumen GC-FID pada konsentrasi : (A) 1,00 µg/mL, (B) 2,01 µg/mL, (C) 5,02 µg/mL, (D) 10,04 µg/mL dan (E) 20,08 µg/mL



Gambar 2 Kromatogram yang diperoleh dari pengujian selektivitas metode analisis stiren dalam sampel kemasan polistiren dengan instrumen *GC-FID* : (A) kromatogram sampel kemasan polistiren dalam pelarut heptana, (B) kromatogram sampel kemasan polistiren dengan penambahan baku internal dalam pelarut heptana, (C) kromatogram sampel kemasan polistiren dengan penambahan baku stiren dan baku internal dalam pelarut heptana

Tabel 5 Nilai persentase perolehan kembali (% recovery) pada uji akurasi metode analisis stiren dengan instrumen GC-FID menggunakan sampel kemasan

Sampel	Rasio area stiren dan baku internal	Konsentr asi stiren dalam sampel ($\mu\text{g/g}$)	% Perolehan kembali (% recovery)
Sampel 1	1.03	555.98	93,37
	1.04	557.46	93,66
Sampel 2	1.07	576.23	97,40
	1.07	574.36	97,03
Sampel 3	1.07	577.73	97,70
	1.07	575.16	97,19
Sampel 4	1.10	590.99	100,34
	1.11	594.90	101,12
Sampel 5	1.06	571.94	96,55
	1.06	571.32	96,43
Sampel 6	1.09	587.01	99,55
	1.09	588.30	99,81
Sampel 7	1.11	597.36	101,61
	1.10	593.54	100,85
		Rata-rata	98,04
		SD	2,62
		Range	93,37- 101,61 %

KESIMPULAN

Tahap validasi metode analisis adalah tahap yang paling menentukan dalam penelitian ini. Tahap tersebut dilakukan dengan selektivitas metode analisis, uji linieritas, presisi dan akurasi. Hasil validasi metode analisis tersebut adalah selektivitas stiren yang baik untuk diukur secara kuantitatif, linieritas dengan nilai $R^2 = 0,999$ (persyaratan $R^2 > 0,990$), presisi dengan nilai $RSD = 0,93\%$ (persyaratan $RSD < \text{nilai } 2/3 \text{ RSD Horwitz}$ yaitu $5,44\%$) dan akurasi persen perolehan kembali (% recovery) = $98,04 \pm 2,62\%$, dengan konsentrasi stiren yang *dispike* $502 \mu\text{g/g}$ sampel (persyaratan AOAC pada konsentrasi $100 \mu\text{g/g} = 85-110\%$). Berdasarkan hasil tersebut, maka metode analisis stiren dalam kemasan polistiren dengan instrumen GC-FID dinyatakan valid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kepala Pusat Pengujian Obat dan Makanan (PPOMN), Badan Pengawas Obat dan Makanan RI atas ijin dan penggunaan fasilitas penelitian di Laboratorium Pangan. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Loise Sirait, Riswahyuli dan Leliwaty yang membantu mengoperasikan instrumen GC-FID.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2012. *Official Methods Of Analysis, Appendix K : Guidelines For Single Laboratory Validation Of Chemical Methods For Dietary Supplements And Botanical*.
- Ahmad, M and A.S Bajahlan. 2006. Leaching Of Styrene And Other Aromatic Compounds In Drinking Water From PS Bottles. *Journal of Environmental Sciences* 19: 421–426.
- Amirshaghghi, Z., Z.E Djomeh, and Oromiehie. 2011. Studies Of Migration Of Styrene Monomer From Polystyrene Packaging Into The Food Simulant. *Iranian Journal of Chemical Engineering* 8 (4):
- BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan). 2011. *Peraturan Kepala Badan POM Nomor HK.03.1.23.07.11.6664 Tahun 2011 tentang Pengawasan Kemasan Pangan*. Jakarta.
- BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan). 2011. *Laporan Kajian Risiko Zat Kontak Pangan Berisiko Tinggi*. Jakarta
- Choi, J.O., F. Jitsunari, F. Asakawa, and D.S Lee. 2005. Migration Of Styrene Monomer, Dimers And Trimers From Polystyrene To Food Simulants. *Food Additives and Contaminants* 22 (7) : 693-699.
- Department of Health and Human Services. 2011. National Toxicology Program. Report on Carcinogen. Twelfth Edition <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/styrene.pdf> [6 Mei 2013].
- Diodovich, C., M.G. Bianchi, G. Bowe, F. Acquati, R. Taramelli, D. Parent-Massin, and L. Gribaldo. 2009. Response Of Human Cord Blood Cells To Styrene Exposure: Evaluation Of Its Effects On Apoptosis And Gene Expression By Genomic

- Technology. *Toxicology* 200 (2–3): 145–157. DOI: 10.1016/j.tox.2009.08.001.
- Duffy, E., A.P. Hearty, M.B. Gilson, M.J. Gibney. 2006. Estimation Of Exposure To Food Packaging Materials. 1: Development Of A Food Packaging Database. *Food Additives And Contaminants* 23:23-633. DOI : 10.1080/02652030600977833
- EU project. 2003. EU Project-Specific Migration Styrene In Polystyrene. Method Prepared by PIRA 22 (1) : 3- 6.
- Grob, K., Stocker J, and Colwell R. 2009. Assurance Of Compliance Within The Production Chain Of Food Contact Materials By Good Manufacturing Practice And Documentation Part 1: Legal Background In Europe And Compliance Challenges. *Food Control* 20 (5) : 476-482. DOI: 10.1016/j.foodcont.2008.07.021.
- Grob, K. 2008. The Future Of Simulants In Compliance Testing Regarding The Migration From Food Contact Materials Into Food. *Food Control* 19 (3) : 263-268. DOI: 10.1016/j.foodcont.2007.04.001.
- IARC (*International Agency for Research on Cancer*). 1994. IARC Monographs On The Evaluation Of The Carcinogenic Risk Of Chemicals To Humans. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 233-320.
- JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives). 1984. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_2204.htm. (12 November 2001)
- JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives). 2006. Combined Compendium of Food Additive Specifications Volume 4. Analytical Methods, Test Procedures And Laboratory Solutions Used By And Referenced In The Food Additive Specifications. Rome : Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Marsh, K. and B. Bugusu. 2007. Food Packaging-Roles, Materials, And Environmental issues. *J. Food Sci.* 72 (3) : 39-55. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x
- Miltz, J., and Rosen-Doody V. 2007. Migration Of Styrene Monomer From Polystyrene Packaging Materials Into Food Simulants. *Journal of Food Processing and Preservation* 8 (3-4):151–161. DOI:10.1111/j.1745-4549.1985.tb00694.x.
- Ohtani, H., Y. Ichikawa , E. Iwamoto, and Miura I. 2011. Effects Of Styrene Monomer And Trimer On Gonadal Sex Differentiation Of Genetic Males Of The Frog *Rana rugosa*. *Environmental Research A* (87) : 175-180.
- Ohyama, K., K. Satoh , Y. Sakamoto , A. Ogata, and Nagai F. 2007. Effects of Prenatal Exposure To Styrene Trimers On Genital Organs And Hormones In Male Rats. *Experimental Biology and Medicine* 232 (2) : 301-308.
- Paraskevopoulou, D. 2011. Migration of Styrene From Plastic Packaging Based On Polystyrene Into Food Simulants. *Polimer International* 61 (1):141-148. DOI: 10.1002/pi.3161.
- Saim, N., Osman R, Abi Sabian HAW, Zubir MRM, and Ibrahim N. 2012. A Study On The Migration Of Styrene From Polystyrene Cups To Drinks Using Online Solid-Phase Extraction Liquid Chromatography (SPE-LC). *The Malaysian Journal of Analytical Sciences* (16)1 : 49 – 55.
- Sanagi, M.M., S.L. Ling, Z. Nasir, W.A.W Ibrahim, and A.A Naim. 2008. Determination Of Residual Volatile Organic Compounds Migrated From Polystyrene Food Packaging Into Food Simulant By Headspace Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 12 (3): 542 – 551.
- Speit, G. and Henderson L. 2005. Review Of The In Vivo Genotoxicity Tests Performed With Styrene. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 589 (1) : 67–79. DOI: 10.1016/j.mrrev.2004.10.001.
- Yanagiba, Y., Y. Ito, O. Yamanoshita, S. Zhang, Watanabe G, Taya K, Mei Li C, Inotsume Y, Kamijima M, J. Gonzalez F *et al.* 2008. Styrene Trimer May Increase Thyroid Hormone Levels Via Down-Regulation Of The Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) Target Gene UDP-Glucuronosyltransferase. *Environ Health Perspect* 116(6): 740–745. DOI: 10.1289/ehp.10724