

## VALIDASI METODE ANALISIS DALAM PENETAPAN KADAR BENZO(A)PIREN PADA IKAN BAKAR

Windi Astuti<sup>1)</sup>, Sri Sudewi<sup>1)</sup>, Henki Rotinsulu<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

### ABSTRACT

*Benzo (a) pyrene is carcinogenic compounds formed by incomplete combustion of organic compounds during processing. This research was conducted by validating analytical methods used in the determination of the levels of benzo (a) pyrene and determines levels of benzo (a) pyrene in grilled fish. Determination of Benzo (a) was carried out by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Optimization of benzo (a) pyrene was carried out with a combination of mobile phase, acetonitrile : water (90:10) and (85:15) with a flow rate of 1,0 and 1,5 mL/min. Validation of analysis methods was carried out by the linearity test, accuracy test, precision test and limits of detection and quantity limit (LOD & LOQ) using a standard solution of benzo (a) pyrene. The results showed that the chosen condition of mobile phase, acetonitrile : water (90:10) and flow rate 1,0 mL/min. The linearity value resulted  $r^2 = 0,9017$ . Accuracy test gives an average value of 100,00 recovery; 101,73 and 97,67%. an intraday precision test result of 0,01; 0,54 and 0,00% and interday; 0,01; 0,02 and 0,01%. Value of limit of detection and limit of quantity (LOD & LOQ) was 13,53 and 45,11  $\mu\text{g/L}$ . The levels of benzo (a) pyrene in grilled fish in restaurant X in Manado City 15,397  $\mu\text{g/L}$ . Validation of analytical methods has already defined in accordance with the terms. The level of benzo (a) pyrene in grilled fish can be determined by using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The result level of Benzo (a) pyrene of no-treatment group and treatment group without wrapping with variable time 60 minutes are exceeds 10  $\mu\text{g}$  which is maximum limit set Food and Drug Regulatory Agency Republic of Indonesia (FDRA RI).*

**Keywords:** Validation of analysis methods, grilled fish, benzo (a) piren, HPLC.

### ABSTRAK

Benzo(a)piren merupakan senyawa karsinogenik yang terbentuk akibat pembakaran tidak sempurna dari senyawa organik selama proses pengolahan. Penelitian ini dilakukan dengan memvalidasi metode analisis yang digunakan dalam penetapan kadar benzo(a)piren dan mengetahui kadar benzo(a)piren dalam ikan bakar. Metode penentuan Benzo(a)piren dilakukan dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Optimasi penetapan benzo(a)piren dilakukan dengan kombinasi Fase gerak Asetonitril : Aquades (90:10) dan (85:15) dengan laju alir 1,0 dan 1,5 mL/menit . Validasi metode analisis dilakukan dengan uji linearitas, uji akurasi, uji presisi dan uji batas deteksi dan batas kuantitas dengan menggunakan larutan standar benzo(a)piren. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum terpilih pada fase gerak Asetonitril : Aquades (90:10) dan laju alir 1,0 mL/menit. Nilai linearitas yang dihasilkan  $r^2 = 0,9017$ . Uji akurasi memberikan nilai rata-rata perolehan kembali 100,00; 101,73 dan 97,67%. Uji presisi memberikan hasil pada intraday 0,01; 0,54 dan 0,00% dan interday 0,01; 0,02 dan 0,01%. Uji batas deteksi dan batas kuantitas memberikan hasil yaitu 13,53 dan 45,11  $\mu\text{g/L}$ . Kadar benzo(a)piren yang dihasilkan pada ikan bakar di rumah makan kota manado yaitu 15,397  $\mu\text{g/L}$ . Validasi metode analisis sesuai dengan syarat yang sudah ditetapkan. Kadar benzo(a)piren pada ikan bakar bisa ditetapkan dengan menggunakan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Kadar benzo(a)piren yang dihasilkan oleh rumah makan di kota manado melebihi dari batas maksimum yang ditetapkan Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI) yaitu sebesar 10  $\mu\text{g/L}$ .

**Kata Kunci :** Validasi metode analisis, Benzo(a)piren, ikan bakar, KCKT

## **PENDAHULUAN**

Ikan merupakan salah satu sumber protein hewani yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di kota Manado, terutama pengolahannya dengan cara dibakar. Ikan bakar adalah ikan yang dihasilkan melalui proses pembakaran, di mana dalam proses pembakaran tersebut menghasilkan senyawa karsinogenik penyebab kanker. Senyawa karsinogenik tersebut adalah HAP (hidrokarbon aromatik polisiklik).

HAP (hidrokarbon aromatik polisiklik) merupakan golongan senyawa organik yang memiliki dua atau lebih cincin aromatik yang dihasilkan dari pembakaran yang tak sempurna bahan bakar fosil, kayu, atau selama pengolahan makanan seperti pembakaran dan pengasapan (Chen dkk, 2005). *Environmental Protection Agency* (EPA) menetapkan 15 jenis HAP yang berbahaya dari 100 jenis HAP yang diketahui, salah satunya adalah benzo(a)piren (Chen dan Chen, 2005).

Senyawa benzo(a)piren merupakan salah satu senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik yang memiliki karsinogenisitas paling kuat bagi manusia sehingga sering dijadikan standar bagi keberadaan senyawa HAP pada makanan. Hidrokarbon aromatik polisiklik dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui berbagai cara seperti respirasi atau pernapasan, terabsorpsi melalui pori-pori kulit dan masuk ke dalam tubuh melalui makanan dan minuman yang dikonsumsi (Lukitaningsih dkk, 2001).

Tujuan Penelitian ini yaitu menentukan kadar senyawa benzo(a)piren dalam ikan bakar.

Validasi metode analisis adalah proses pengujian karakter kinerja metode

analisis melalui serangkaian uji laboratorium. Tujuannya yaitu untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan mampu memberikan hasil yang cermat dan handal hingga dapat dipercaya.

## **BAHAN DAN CARA KERJA**

### **Alat**

Seperangkat instrument HPLC, alat-alat gelas, timbangan analitik, lemari pendingin, sentrifugasi, *rotary evaporator*, mikrofilter.

### **Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah Ikan, Ikan bakar, daun pisang, alluminium foil, Aquades, benzo(a)piren (pa), asetonitril (pa), methanol (grade HPLC), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Anhidrat, etil asetat.

### **Cara Kerja**

#### **Pengambilan Sampel**

Sampel ikan mentah diambil dari Rumah Makan X di kota Manado.

#### **Pembuatan Larutan Standar**

##### a. Stok standar larutan 1

Larutkan 2,5 mg benzo(a)piren dalam 50 mL asetonitril dalam 50 mL labu takar dan encerkan sampai tanda dengan asetonitril. Konsentrasi akhir benzo(a)piren 50 mg/L.

##### b. Stok standar larutan 2

Tambahkan 1 mL stok larutan standar 1 ke dalam 50 mL labu takar dan encerkan sampai tanda dengan asetonitril. Konsentrasi akhir benzo(a)piren menjadi 1 mg/L.

##### c. Stok standar larutan 3

Tambahkan 1 mL stok larutan standar 2 ke dalam 50 mL labu takar dan encerkan

sampai tanda dengan asetonitril. Konsentrasi akhir benzoapiren menjadi 20 µg/L.

### **Optimasi Fase Gerak dan Laju Alir**

Larutan Standar Benzoapiren pada konsentrasi 20 µg/L diinjeksikan sebanyak 20 µL pada komposisi fase gerak Asetonitril : Aquades pada perbandingan (90:10) dan (85:15) dengan perbandingan fase gerak terpilih laju alir 1,0 dan 1,5 mL/menit dan deteksi pada panjang gelombang 254 nm.

### **Perlakuan Sampel**

#### **a. Penyiapan sampel**

Sampel ikan mentah dibersihkan, kemudian diberi perlakuan yaitu bagian I ikan dibakar tanpa pembungkusan, bagian II ikan dibakar dengan menggunakan daun pisang, bagian III ikan dibakar menggunakan alluminium foil. Pada masing-masing bagian ikan, dibakar dalam waktu 30, 45, dan 60 menit. Setelah itu, sampel ikan bakar diblender hingga halus kemudian dikeringkan dalam oven 100 °C hingga kandungan air habis (Lukitaningsih dkk, 2001).

#### **b. Ekstraksi sampel**

Masukkan 2 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Anhidrat dan 2 g sampel ke dalam 50 mL tabung centrifuge kemudian tambahkan 20 mL etil asetat. Campurkan selama 1 menit untuk mengekstrak, kemudian sentrifugasi ekstrak selama 2 menit pada 8000 rpm, ambil supernatant. Kemudian tambahkan 20 mL etil asetat ke residu dan ekstrak kedua kalinya dengan cara yang sama.

Supernatant I dan II ( masing-masing 20 mL) dievaporasi pada suhu 55°C takar dan encerkan sampai tanda batas dengan etil

asetat. Sebelum diinjeksi larutan disaring terlebih dahulu dengan penyaring 0.45 µm.

### **Penetapan Kadar Sampel**

Sampel disuntikkan ke dalam HPLC pada kondisi yang sudah di optimasi ( Fase gerak (asetonitril : aquades ), laju alir (1.0, dan 1.5 mL/menit))

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Optimasi Fase Gerak Dan Laju Alir**

Penetapan kadar Benzo(a)piren dilakukan pada kondisi optimum yang terpilih dengan *High Performace Liquid Cromatography* menggunakan kolom *symmetry C<sub>18</sub>* dengan dua kondisi, pertama kecepatan alir 1,0 mL/menit, panjang gelombang 254 nm dan volume penyuntikan 20 µL. Komposisi fase gerak semula terdiri dari Asetonitril : Aquades (90:10) . Pada komposisi ini, waktu retensi Benzo(a)piren yaitu 10,048 menit. Kemudian dilakukan modifikasi fase gerak yaitu komposisi kedua Asetonitril : Aquades (85:15) waktu retensi Benzo(a)piren yaitu 8,580 menit dengan menggunakan laju alir 1,5 mL/menit. Namun hasil optimasi ini memberikan data kromatogram dengan puncak yang berdekatan dengan senyawa yang lain.

Hasil dari kedua metode tersebut, dipilihlah metode pertama yaitu menggunakan komposisi fase gerak Asetonitril : Aquades (90:10) dan kecepatan alir 1,0 mL/menit. Metode ini dipilih karena menghasilkan plat teoritis yang lebih banyak dari pada komposisi fase gerak yang lain, HETP (*Height Equivalent Theoretical Plate*) yang lebih kecil. Faktor kapasitasnya memenuhi persyaratan (1-10) serta asimetris yang baik (<2,5) sebagaimana tercantum pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil penetapan komposisi fase gerak pada konsentrasi 20 µg/L, dengan kecepatan alir 1,0 mL/menit dan 1,5 mL/menit , panjang gelombang 254 nm dan volume penyuntikan 20 µL.

Fa se ra k	Tr (me nit)	Luas punc ak (mV )	N	HE TP	Fakt or kap asita s	Asi metr is
90 : 10	10, 048 0	9012 195	1398 3,275 7	0,0 01 0	7,03 84	1,00 00
85 : 15	8,5 800	1005 6086	1631, 8764	0,0 09 1	4,54 98	0,75 00

Keterangan :

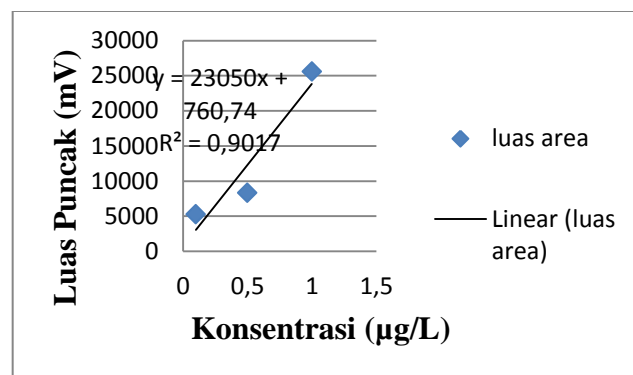
Tr = *Time Retention* (waktu retensi)

N = Plat teoritis

HETP = *Height Equivalent Theoretical Plate*

**Validasi Metode Analisis Benzo(a)pirene Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas Benzo(a)pirene**

Uji ini dilakukan pada seri larutan standar Benzo(a)piren dengan tiga konsentrasi yaitu 0,1 µg/L; 0,5 µg/L dan 1,0 µg/L. Dari uji ini diperoleh persamaan regresi linear dan koefisien korelasi (r). Hasil uji ini diperoleh persamaan  $Y = 23050X + 760,74$  dan koefisien korelasi ( $r^2$ ) 0,9017. Kurva kalibrasi dari persamaan garis tersebut terdapat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva kalibrasi Benzo(a)piren

**Uji Akurasi**

Uji Akurasi dilakukan dengan 3 konsentrasi sampel yaitu pada 0,1 µg/L,; 0,5 µg/L dan 1,0 µg/L dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi. Syarat hasil uji akurasi adalah % diff dengan nilai ≤ 15%. Hasil uji rata-rata dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel. 2.** Hasil uji rata-rata akurasi

C (µg/L )	Rata-rata Luas Puncak (mV)	Rata-rata Konsentra si terukur (µg/L)	Rata-rata peroleha n kembali (%)	% diff rata - rata
0,1	3229,6 7	0,10	100,00	0,0 0
0,5	4816,6 7	0,47	101,73	5,2 0
1,0	6897,0 0	0,97	97,67	- 6,7 0

**Uji Presisi**

Uji dilakukan dengan menggunakan 3 konsentrasi yaitu pada 0,1 µg/L; 0,5 µg/L dan 1,0 µg/L. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi, dilakukan pada pengujian intra-hari (dalam 1 hari) dan inter-hari (selama 2 hari). Syarat hasil uji presisi adalah simpangan baku relatif atau %RSD (*Relative Standard Deviation*) dari masing-masing konsentrasi dengan nilai ≤ 15 %. Hasil Uji rata-rata presisi dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

**Tabel 3.** Hasil uji rata-rata presisi hari pertama

C (µg/L)	Rata-rata Luas Puncak (mV)	SD	RSD (%)
0,1	3229,67	0,44	0,01
0,5	4816,67	28,81	0,54
1,0	7170,00	0,00	0,00

**Tabel 4.** Hasil uji rata-rata presisi hari kedua

C (µg/mL)	Rata-rata Luas Puncak (mV)	SD	RSD (%)
0,1	2410,67	0,44	0,01
0,5	1421,30	0,31	0,02
1,0	1455,67	0,44	0,01

**Uji Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitas (LOQ)**

Uji batas deteksi dan batas kuantitas dilakukan untuk mengetahui batas deteksi dan batas kuantitas terendah dari larutan

(benzo(a)piren) yang masih dapat menghasilkan data dengan akurasi dan presisi yang baik. Batas deteksi yang diperoleh dari pengujian sebesar 13,53 µg/L dan batas kuantitas 45,11 µg/L. Data mengenai uji batas deteksi dan batas kuantitas dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil uji batas deteksi, batas kuantitas dan koefisien fungsi

Parameter	Nilai
Simpangan Baku Residual (S y/x)	3432,15
Limit Deteksi (LOD)	13,53 µg/L
Limit Kuantitas (LOQ)	45,11 µg/L

**Penetapan Kadar Benzo(a)piren**

**Tabel 6.** Hasil Penetapan kadar Benzo(a)piren dalam Sampel ikan Bakar dirumah makan X Kota Manado

Sampe l Ikan Bakar Ruma h Maka n Kota Mana do	Luas Punca k (mV)	Rata-rata Wakt u retensi (meni t)	Kadar Teruk ur (µg/L)	Keterang an
X	35566 2	10,23 7	15,39 7	D

Keterangan :

D : Terdeteksi

TD : Tidak terdeteksi

**PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini telah dilakukan penetapan kadar Benzo(a)piren dalam ikan bakar. Penelitian ini dilakukan sebagai pengujian terhadap makanan dari segi

keamanannya. Namun sebelum dilakukan penetapan kadar perlu dilakukan optimasi dan validasi agar mendapatkan metode yang terbaik untuk analisa kadar Benzo(a)piren dalam ikan bakar. Metode analisis dengan menggunakan alat HPLC ini dipilih karena memiliki banyak kelebihan di antaranya cara kerjanya sederhana dan sensitif.

Hal yang pertama kali dilakukan adalah penetapan komposisi fase gerak dan laju alir. Penetapan komposisi fase gerak dan laju alir pada kondisi optimum yang terpilih dengan *High Performance Liquid Chromatography* menggunakan kolom *symetry* (C<sub>18</sub>) pada dua kondisi, pertama kecepatan alir 1,0 mL/menit, panjang gelombang 254 nm dan volume penyuntikan 20 µL. Komposisi fase gerak semula terdiri dari Asetonitril : Aquades (90 : 10). Pada komposisi ini, waktu retensi benzo(a)piren yaitu 10,048 menit. Dimana hasil dari kondisi pertama menunjukkan plat teoritis (N) 13983,275 , HETP 0,0010, faktor kapasitasnya 7,0384 dan asimetri atau faktor pengekorannya 1,0000. Kemudian dilakukan modifikasi fase gerak yaitu komposisi kedua Asetonitril : Aquades (85 : 15) waktu retensi benzo(a)pirene yaitu 8,580 menit dengan menggunakan laju alir 1,5 mL/menit. Pada kondisi kedua dihasilkan kondisi kromatogram yang sangat berdekatan, hasil plat teoritisnya (N) 1631,8764, HETP 0,0091 , faktor kapasitasnya 4,5498 dan asimetrinya 0,7500.

Jika dibandingkan dari kedua kondisi tersebut kondisi pertama memberikan hasil parameter yang memenuhi persyaratan karena semakin banyak lempeng teoritis (N) maka pemisahan semakin baik. Semakin

panjang L (panjang kolom) maka semakin banyak jumlah lempeng teoritis dan efisiensinya semakin bagus. Sedangkan jika HETP semakin rendah maka efisiensi kolom semakin baik. Sehingga dipilihlah kondisi pertama sebagai parameter terhadap penetapan kadar benzo(a)piren selanjutnya. Sedangkan jika dilihat dari kedua komposisi fase gerak tersebut, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi asetonitril dan laju alir yang digunakan maka waktu retensi benzo(a)piren semakin cepat namun resolusinya semakin berkurang. Hal ini disebabkan oleh semakin banyaknya fase organik (kepolaran berkurang) maka afinitas ikatan analit terhadap kolom yang nonpolar akan semakin berkurang sehingga analit tidak tertahan secara kuat pada kolom dan terelusi lebih cepat, namun hal ini menyebabkan resolusinya juga berkurang ( Snyder dkk, 2010).

Validasi metode Benzo(a)piren menggunakan HPLC dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa metode tersebut akurat dan dapat digunakan sebagai metode untuk penetapan kadar Benzo(a)piren dalam ikan bakar. Validasi metode yang dilakukan adalah validasi sebagian dengan mempertimbangkan bahwa metode yang dilakukan pada penelitian ini merupakan modifikasi dari metode yang telah dilakukan sebelumnya. Parameter validasi yang dilakukan meliputi linearitas, akurasi, presisi, limit deteksi dan limit kuantitas.

Linieritas merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Dari

percobaan dibuat larutan standar Benzo(a)piren dengan konsentrasi 0,1; 0,5 dan 1,0 µg/L. Didapatkan hasil persamaan garis regresi linier  $Y = 23050X + 760,74$  dan koefisien korelasi ( $r^2$ ) 0,9017. Koefisien korelasinya menunjukkan hasil yang cukup baik sesuai dengan kriteria linearitas untuk senyawa induk pada tingkat koefisien korelasi 0,9000 (Hasan, 2006).

Uji akurasi dilakukan untuk mengetahui kedekatan hasil penetapan yang diperoleh dengan hasil sebenarnya. Akurasi diperiksa dengan menghitung perbedaan nilai yang terukur dengan nilai sebenarnya (%diff). Pada uji akurasi ini digunakan 3 konsentrasi yaitu 0,1 ; 0,5 dan 1,0 µg/L. Persyaratan yang ditentukan adalah %diff  $\pm 15\%$  (Gandjar & Rohman, 2007). Pada konsentrasi 0,1 µg/L diperoleh hasil %diff rata-rata sebesar 0,00%, konsentrasi 0,5 µg/L diperoleh %diff rata-rata sebesar 5,20% dan konsentrasi 1,0 diperoleh %diff rata-rata sebesar -6,70%. Kemudian dihitung juga nilai perolehan kembalinya (% Recovery) dengan cara membandingkan konsentrasi benzo(a)piren yang terukur dengan kadar benzo(a)piren sebenarnya dikalikan 100%. Nilai uji perolehan kembali pada konsentrasi 0,1 µg/L berkisar 100,00% , konsentrasi 0,5 µg/L berkisar 101,73% dan konsentrasi 1,0 µg/L berkisar 97,76%. Perolehan kembali disyaratkan pada kisaran 80 -110% pada tiap level (Yuwono & Indrayanto, 2005).

Berdasarkan ketiga konsentrasi yang telah diperoleh, perolehan kembali dari ketiga konsentrasi tersebut telah sesuai dengan persyaratan yang ada. Perbedaan hasil perolehan kembali dan % diff ini disebabkan

oleh luas area puncak yang timbul saat pembacaan di sistem HPLC . Keakuratan data tersebut disebabkan oleh sistem yang ada karena sistem tersebut berubah-ubah. Pengujian perolehan kembali dilakukan pada tiga konsentrasi dengan tujuan untuk memberikan batas range bahwa pada konsentrasi demikian analit yang terukur pada daerah tersebut masih terbaca dengan baik oleh detektor.

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel. Uji presisi dilakukan intra-hari dan inter-hari, pada pengujian intra-hari, konsentrasi yang digunakan yaitu 0,1 µg/L diperoleh %RSD (*Relative Standard Deviation*) sebesar 0,01%, pada konsentrasi 0,5 µg/L sebesar 0,59% dan konsentrasi 1,0 µg/L diperoleh 0,00%. Sedangkan pada pengujian inter-hari %RSD (*Relative Standard Deviation*) yang diperoleh dari konsentrasi 0,1 µg/L yaitu 0,01%, konsentrasi 0,5 µg/L yaitu 0,02% dan 1,0 µg/L yaitu 0,01%. Terlihat dari kedua data intra-hari dan inter-hari selama 2 hari berturut-turut hasil %RSD (*Relative Standard Deviation*)  $\leq 15\%$ . Hasil ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa untuk senyawa-senyawa dengan pengukuran kadar sekelumit, nilai %RSD dapat diterima jika  $\leq 15\%$  (Gandjar & Rohman, 2007). sehingga bisa dikatakan pada uji presisi ini memenuhi syarat. Uji ini dilakukan intra-hari dan inter hari selama 2 hari untuk memastikan bahwa setelah sediaan disimpan masih stabil dan tidak mengganggu hasil analisa.

Langkah selanjutnya adalah penetapan batas deteksi dan batas kuantitasi. Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan. Sedangkan batas kuantitas merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria akurat dan seksama. Batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung dari persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi (Ermer and Burgess, 2005). Hasil dari uji batas deteksi ini adalah 13,53 µg/L dan batas kuantitasi sebesar 45,11 µg/L.

Penetapan kadar benzo(a)piren pada ikan bakar yang ada dirumah makan X di Kota Manado yaitu 15,397 µg/L.

Kandungan benzo(a)piren yang terdapat dalam sampel dirumah makan X di Kota Manado melebihi batas yang dianjurkan oleh *The Joint FOA/WHO Expert Committee on Food Additives* (JEFTA) yaitu 10 µg/kg atau 10 ppb. Besarnya kandungan benzo(a)piren disebabkan karena proses pembakaran yang terlalu lama, suhu yang tinggi dan jarak pembakaran antara ikan dan api yang terlalu dekat. Waktu, suhu dan jarak pembakaran merupakan variabel yang sangat berpengaruh pada pembentukan senyawa HAP selama proses pembakaran.

## KESIMPULAN

1. Kondisi optimum untuk penetapan kadar Benzo(a)piren secara HPLC dengan fase gerak Asetonitril : Aquades (90:10), dan laju alir 1,0 mL/menit. Hasil Validasi menunjukkan bahwa metode analisis

yang dilakukan sudah cukup memenuhi persyaratan untuk linearitas ( $r^2=9,017$ ), akurasi (%diff ≤ 15) , presisi (% RSD ≤ 15), batas deteksi (13,53 µg/L) dan batas kuantitas (45,11 µg/L). Secara keseluruhan metode yang telah divalidasi bisa digunakan untuk penetapan kadar Benzo(a)piren.

2. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan kadar benzo(a)piren dalam ikan bakar dirumah makan X yaitu 15,397 µg/L.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2010. Peraturan Kepala Badan POM RI Tentang Penetapan Batas Maksimum Cemar Mikroba dan Kimia dalam Makanan. *Buletin Keamanan Pangan*. 7. 8-9. Badan POM RI.
- Chen, J., and Chen, S. 2005. Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Low Density Polyethylene from Liquid Model and Roasted Meat. *Food Chemistry*., **90**: 461-469.
- Farhadian, A. 2010. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Grilled Beef and Chicken and Their Reduction Through Various Treatments*, Tesis diterbitkan, Faculty Food Science and Technology Scope, Universiti Putra Malaysia.
- Farhadian, A., Jinap S., Hanifah H.N., and Zaidul I.S. 2011. Effects of Meat Preheating and Wrapping on The Levels of Polycyclic Aromatic



Hydrocarbons in Charcoal-grilled Meat, *Food Chemistry*. **124**: 141-146.

Lukitaningsih, E., Sudarmanto, A., dan Noegrohati, S. 2001. Analisis Kandungan Senyawa Hidrokarbon Polisiklik Aromatik dalam Daging Olahan. *Majalah Farmasi Indonesia*. **12** (3): 103-108.

Snyder, L. R., Kirkland, J.J., and Dolan, J.W. 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey. USA