

TESIS

**VALIDASI METODE ANALISIS KADAR MIGRASI
FORMALDEHID DALAM AIR KEMASAN
MENGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI
CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**

*VALIDATION METHOD ANALYSIS DETERMINANT
MIGRATION FORMALDEHYDE IN DRINKING
WATER BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY*

NUR RAMADHANI

N012211038



PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**VALIDASI METODE ANALISIS KADAR MIGRASI
FORMALDEHID DALAM AIR KEMASAN
MENGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI
CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

NUR RAMADHANI

N012211038

Kepada

PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

LEMBAR PENGESAHAN

VALIDASI METODE ANALISIS KADAR MIGRASI FORMALDEHID DALAM AIR
KEMASAN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
(KCKT)

Disusun dan diajukan oleh

NUR RAMADHANI

N012211038

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian
Studi Program Magister Program Studi Magister Farmasi Fakultas Farmasi Universitas
Hasanuddin

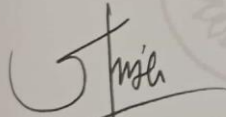
Pada Tanggal 03 April 2024

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Mengetahui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



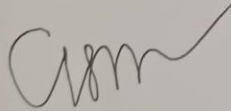
Dr. apt. Risfan Yulianty, S.Si., M.Si
NIP. 19780716 200312 2 001



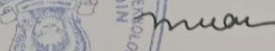
Prof. apt. Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D
NIP. 19751117 200012 2 001

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



apt. Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 19800101 200312 1 004



Prof. Dr. rer.nat. apt. Marianti A. Manggau
NIP. 19670319 199203 2 002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul "VALIDASI METODE ANALISIS KADAR MIGRASI FORMALDEHID DALAM AIR KEMASAN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Dr. apt. Risfah Yulianty, M.Si., sebagai Pembimbing Utama dan Prof. apt. Yusnita Rifai, S.Si, M.Pharm, Ph.D sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar,

April 2024



NUR RAMADHANI

(N0122110138)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Dalam pembuatan Tesis, penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. apt. Risfah Yulianty, M.Si selaku pembimbing utama dan dosen penasehat akademik yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan masa studinya selama di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Ibu Prof. apt. Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan serta saran dan telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
3. Bapak apt. Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D, Bapak Prof. Dr. apt. Gemini Alam, M.Si, Bapak Prof. Dr. apt. Tadjuddin Naid, M.Sc selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
5. Bapak apt. Agus Riyanto, S.Farm selaku Kepala Balai POM di Palu beserta Pegawai Balai POM di Palu yang telah memberikan fasilitas kepada penulis.
6. Bapak apt. Leksi Paseru, S.Si yang telah meluangkan waktu untuk membimbing selama penelitian di Balai POM di Palu.

7. Kedua orang tua tercinta Ibu Hidjaiyah dan Bapak Ardin Lanti, Suami serta saudara saudari atas doa, perhatian, kasih sayang, dukungan baik secara moril ataupun materil.
8. Teman-teman yang telah banyak membantu selama studi dan memberi banyak dukungan serta motivasi dalam menyelesaikan tesis ini.
9. Teman-teman Pascasarjana angkatan 2021, yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman yang tidak terlupakan selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
10. Semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat disebutkan Namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Tesis masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya ilmu farmasi. Aamiin.

Makassar, April 2024

Penulis

Nur Ramadhani

ABSTRAK

Nur Ramadhani. Validasi Metode Analisis Kadar Migrasi Formaldehid Dalam Air Kemasan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (dibimbing oleh Risfah Yulianty dan Yusnita Rifai)

Polietilen tereftalat (PET) digunakan dalam air minum kemasan. Namun PET mudah rusak karena pengaruh suhu dan waktu penyimpanan. Formaldehid bermigrasi dari PET sebagai produk degradasi termal. Adapun tujuan penelitian yaitu menentukan kadar migrasi formaldehid dalam air minum kemasan PET dengan berbagai volume terhadap suhu dan lama penyimpanan. Analisis kadar migrasi formaldehid pada air minum kemasan PET telah berhasil dilakukan menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi tervalidasi. Total sampel adalah 162 dari tiga merk air minum kemasan PET yang diperoleh dari Supermarket di Kota Palu, Sulawesi Tengah, Indonesia. Analisis formaldehid menggunakan kombinasi fase gerak yaitu metanol:asetonitril:air (48:12:40 v/v) selama 12,97 menit, laju alir 0,8 mL/menit, dilakukan pada hari ke-1, setelah hari ke-14 dan ke-42 dalam penyimpanan suhu kamar dan terpapar sinar matahari. Formaldehid tidak memiliki gugus kromofor yang efisien dan tidak mudah terionisasi sehingga dilakukan derivatisasi dengan 2,4-dinitrophenylhidrazin sebelum dianalisis menggunakan KCKT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa linearitas metode sangat baik pada rentang konsentrasi 0,5 hingga 1321 µg/mL dengan nilai koefisien korelasi yang tinggi sebesar 0,999. Batas deteksi (LOD) dan batas kuantisasi (LOQ) berturut turut 17,33 dan 57,76 µg/mL. Pengujian presisi menunjukkan nilai rata-rata *intraday* dan *interday* masing-masing adalah 128,46±3,48% dan 103,19±0,12% (%RSD < 2/3 CV Horwitz ratio). Nilai % *recovery intraday* dan *interday* masing-masing adalah 97,22±3,48% dan 96,83±0,14% (n = 6). Hasil analisis kadar dalam sampel menunjukkan tidak satu pun dari sampel terdeteksi adanya migrasi formaldehid.

Kata Kunci: Air minum kemasan, formaldehid, polietilen tereftalat, validasi.

ABSTRACT

Nur Ramadhani. *Validation Method Analysis Determinant Migration Formaldehyde in Drinking Water By High-Performance Liquid Chromatography* (supervised by Risfah Yulianty and Yusnita Rifai)

Polyethylene terephthalate (PET) is used in bottled drinking water. However, PET can be easily damaged by the effect of temperature and storage time. Formaldehyde migrates from PET as a thermal degradation product. The aim of this research was to determine the level of formaldehyde migration in PET bottled drinking water with various volumes under the different condition of temperature and storage duration. The analysis of formaldehyde migration levels in polyethylene terephthalate (PET) bottled drinking water has been successfully conducted using a validated high-performance liquid chromatography (HPLC) method. A total of 162 samples from three brands of PET bottled drinking water obtained from Supermarkets in Palu City, Central Sulawesi, Indonesia, were analyzed. The formaldehyde analysis was performed using a mobile phase combination of methanol:acetonitrile:water (48:12:40 v/v) for 12.97 minutes, with a flow rate of 0.8 mL/minute on the 1st day, after the 14th day and after the 42nd day under room temperature storage and exposure to sunlight. Formaldehyde lacks efficient chromophoric groups and is not easily ionizable, thus derivatization with 2,4-dinitrophenylhydrazine was conducted before analysis using HPLC. The research results indicate excellent method linearity in the concentration range of 0.5 to 1321 µg/mL with a high correlation coefficient value of 0.99. The limit of detection (LOD) and quantification (LOQ) were 17.33 and 57.76 µg/mL, respectively. Precision testing showed average intraday and interday values of $128.46 \pm 3.48\%$ and $103.19 \pm 0.12\%$, respectively ($\%RSD < 2/3$ CV Horwitz ratio). The intraday and interday %recovery values were $97.22 \pm 3.48\%$ and $96.83 \pm 0.14\%$ ($n = 6$). The analysis of formaldehyde levels in the samples revealed no detection of formaldehyde migration.

Keywords: bottled drinking water, formaldehyde, polyethylene terephthalate, validation.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	iix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xxvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Tujuan Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Air Minum dalam Kemasan (AMDK).....	7
B. Formaldehid	8
C. Polietilen Tereftalat (PET)	9
1. Polietilen Tereftalat (PET)	9
2. Pembentukan Senyawa Karbonil dalam Bahan PET	10
3. Substansi yang Ditemukan dalam PET dan Botol PET Air Minum	10
D. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....	14
1. Komponen Sistem KCKT.....	14
E. Jenis KCKT	16
F. Derivatisasi	17
G. Validasi Metode Analisis	18
H. Kerangka Konsep.....	25
I. Kerangka Konseptual.....	26
BAB III METODE KERJA	27

A.	Waktu dan Tempat Penelitian	27
B.	Alat dan Bahan.....	27
1.	Alat	27
2.	Bahan	27
C.	Cara Kerja.....	28
3.	Pengumpulan sampel.....	28
4.	Preparasi pereaksi 2,4-DNPH	28
5.	Preparasi larutan baku formaldehid.....	28
6.	Validasi metode analisis.....	29
5.	Penetapan kadar migrasi formaldehid dalam air minum kemasan	32
D.	Analisis Data	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		34
A.	Hasil Penelitian	34
B.	Pembahasan.....	43
BAB V		47
PENUTUP.....		47
A.	Kesimpulan	47
B.	Saran	47
DAFTAR PUSTAKA		47
LAMPIRAN		55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik validasi yang diperlukan untuk jenis prosedur analisis	19
2. Kriteria keberterimaan parameter kesesuaian sistem	21
3. Hasil uji kesesuaian sistem.....	34
4. Hasil uji presisi intraday	36
5. Hasil uji presisi interday	37
6. Hasil uji akurasi intraday.....	38
7. Hasil uji akurasi interday.....	39
8. Hasil uji ketahanan (<i>Robustness</i>)	41
9. Hasil penentuan kadar formaldehid	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Struktur formaldehid	8
2.	Struktur dan persamaan kimia polimer PET	9
3.	Sistem KCKT	14
4.	Reaksi kimia antara 2,4-DNPH dan senyawa karbonil	18
5.	Kurva kalibrasi baku formaldehid	35
6.	Skema kerja	55
7.	Kromatogram baku formaldehid pada uji kesesuaian sistem dengan replikasi ke-1	67
8.	Kromatogram baku formaldehid pada uji kesesuaian sistem dengan replikasi ke-2	67
9.	Kromatogram baku formaldehid pada uji kesesuaian sistem dengan replikasi ke-3	67
10.	Kromatogram baku formaldehid pada uji kesesuaian sistem dengan replikasi ke-4	68
11.	Kromatogram baku formaldehid pada uji kesesuaian sistem dengan replikasi ke-5	68
12.	Kromatogram baku formaldehid pada uji kesesuaian sistem dengan replikasi ke-6	68
13.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 0,5 µg/mL	69
14.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 1 µg/mL	69
15.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 1,5 µg/mL	69
16.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 2 µg/mL	70
17.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 2,5 µg/mL	70
18.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 5,5 µg/mL	70
19.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 11 µg/mL	71
20.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 22 µg/mL	71
21.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 44 µg/mL	71
22.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 66 µg/mL	72
23.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 110 µg/mL	72
24.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 220 µg/mL	72
25.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 440 µg/mL	72
26.	Kromatogram baku formaldehid pada uji linearitas dengan seri konsentrasi 1321 µg/mL	73

27.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi intraday dengan replikasi ke-1	74
28.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi intraday dengan replikasi ke-2	74
29.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi intraday dengan replikasi ke-3	74
30.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi intraday dengan replikasi ke-4	75
31.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi intraday dengan replikasi ke-5	75
32.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi intraday dengan replikasi ke-6	75
33.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi interday dengan replikasi ke-1	76
34.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi interday dengan replikasi ke-2	76
35.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi interday dengan replikasi ke-3	76
36.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi interday dengan replikasi ke-4	77
37.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi interday dengan replikasi ke-5	77
38.	Kromatogram baku formaldehid pada uji presisi-akurasi interday dengan replikasi ke-6	77
39.	Kromatogram baku formaldehid pada uji ketahanan intraday dengan perubahan waktu alir 1,0 mL/menit	78
40.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan intraday dengan perubahan waktu alir 1,0 mL/menit pada replikasi ke-1	78
41.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan intraday dengan perubahan waktu alir 1,0 mL/menit pada replikasi ke-2	78
42.	Kromatogram baku formaldehid pada uji ketahanan intraday dengan perubahan waktu alir 0,6 mL/menit	79
43.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan intraday dengan perubahan waktu alir 0,6 mL/menit pada replikasi ke-1	79
44.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan intraday dengan perubahan waktu alir 0,6 mL/menit pada replikasi ke-2	79
45.	Kromatogram baku formaldehid pada uji ketahanan intraday dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (38:15:47)	80
46.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (38:15:47) pada replikasi ke-1	80
47.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (38:15:47) pada replikasi ke-2	80
48.	Kromatogram baku formaldehid pada uji ketahanan intraday dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (58:9:33)	81
49.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan intraday dengan perubahan fase gerak methanol:asetonitril:air (58:9:33) pada replikasi ke-1	81

50.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan intraday dengan perubahan fase gerak methanol:asetonitril:air (58:9:33) pada replikasi ke-2	81
51.	Kromatogram baku formaldehid pada uji ketahanan interday dengan perubahan waktu alir 1,0 mL/menit	82
52.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan interday dengan perubahan waktu alir 1,0 mL/menit pada replikasi ke-1	82
53.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan interday dengan perubahan waktu alir 1,0 mL/menit pada replikasi ke-2	82
54.	Kromatogram baku formaldehid pada uji ketahanan interday dengan perubahan waktu alir 0,6 mL/menit	83
55.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan interday dengan perubahan waktu alir 0,6 mL/menit pada replikasi ke-1	83
56.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan interday dengan perubahan waktu alir 0,6 mL/menit pada replikasi ke-2	83
57.	Kromatogram baku formaldehid pada uji ketahanan interday dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (38:15:47)	84
58.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan interday dengan perubahan fase gerak methanol:asetonitril:air (38:15:47) pada replikasi ke-1	84
59.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan interday dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (38:15:47) pada replikasi ke-2	84
60.	Kromatogram baku formaldehid pada uji ketahanan interday dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (58:9:33)	85
61.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan interday dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (58:9:33) pada replikasi ke-1	85
62.	Kromatogram sampel air minum pada uji ketahanan interday dengan perubahan persentase fase gerak methanol:asetonitril:air (58:9:33) pada replikasi ke-2	85
63.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	86
64.	Kromatogram sampel merek B pada uji penentuan kadar migrasi formald Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid ehid.....	86
65.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	86
66.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	87
67.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	87
68.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	87

69.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	88
70.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	88
71.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	88
72.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	89
73.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	89
74.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	89
75.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	90
76.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	90
77.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	90
78.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	91
79.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	91
80.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	91
81.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	92
82.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	92
83.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	92
84.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	93
85.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	93

86.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	93
87.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	94
88.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	94
89.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	94
90.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	95
91.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	95
92.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	95
93.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	96
94.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	96
95.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	96
96.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	97
97.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	97
98.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	97
99.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	98
100.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	98
101.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	98
102.	Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	99

103. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	99
104. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	99
105. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	100
106. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	100
107. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	100
108. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	101
109. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	101
110. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	101
111. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	102
112. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	102
113. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	102
114. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	103
115. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	103
116. Kromatogram sampel merek A pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	103
117. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	104
118. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	104
119. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	104

120.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	105
121.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	105
122.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	105
123.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	106
124.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	106
125.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	106
126.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	107
127.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	107
128.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	107
129.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	108
130.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	108
131.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	108
132.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	109
133.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	109
134.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	109
135.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	110
136.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	110

137. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	110
138. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	111
139. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	111
140. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	111
141. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	112
142. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	112
143. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	112
144. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	113
145. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	113
146. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	113
147. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	114
148. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	114
149. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	114
150. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	115
151. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	115
152. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	115
153. Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	116

154.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	116
155.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	116
156.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	117
157.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	117
158.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	117
159.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	118
160.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	118
161.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	118
162.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	119
163.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	119
164.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	119
165.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	120
166.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	120
167.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	120
168.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	121
169.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	121
170.	Kromatogram sampel merek B pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 5000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	121

171. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	122
172. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	122
173. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	122
174. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	123
175. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	123
176. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	123
177. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	124
178. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	124
179. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	124
180. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	125
181. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	125
182. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	125
183. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	126
184. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	126
185. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	126
186. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	127
187. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	127

188. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 330 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	127
189. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	128
190. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	128
191. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	128
192. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	129
193. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	129
194. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	129
195. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	130
196. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	130
197. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	130
198. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	131
199. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	131
200. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	131
201. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	132
202. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	132
203. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	132
204. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	133

205. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	133
206. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 600 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	133
207. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 5000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	134
208. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 6000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	134
209. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-1 dengan volume 6000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	134
210. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 6000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	135
211. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 6000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	135
212. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-14 dengan volume 6000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	135
213. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 6000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	136
214. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 6000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	136
215. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu kamar (19-25°C) hari ke-42 dengan volume 6000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid	136
216. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 6000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	137
217. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 6000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	137
218. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-1 dengan volume 6000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	137
219. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 6000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	138
220. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 6000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	138
221. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-14 dengan volume 6000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	138

222. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 6000 mL pada replikasi 1 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	139
223. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 6000 mL pada replikasi 2 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	139
224. Kromatogram sampel merek C pada penyimpanan suhu terpapar sinar matahari (26-38°C) hari ke-42 dengan volume 6000 mL pada replikasi 3 dalam uji penentuan kadar migrasi formaldehid.....	139
225. Kromatografi cair kinerja tinggi	140
226. Timbangan miligram	140
227. Sonikator.....	140
228. Vortex mikser	140
229. pH meter	140
230. Thermometer	140

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	55
2. Perhitungan	56
2a. Perhitungan <i>Tailing factor</i>	56
2b. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi larutan baku formaldehid ...	58
2c. Perhitungan nilai <i>relative percent different</i> (RPD) dalam parameter uji ketahanan (<i>Robustness</i>) Intra day	59
2d. Perhitungan nilai <i>relative percent different</i> (RPD) dalam parameter uji ketahanan (<i>Robustness</i>) Inter day	63
3. Gambar hasil penelitian.....	67
4. Gambar instrument	140
5. Hasil analisis data	141

DAFTAR SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan penjelasan
°C	Derajat celcius
µg	Mikrogram
AMDK	Air minum dalam kemasan
BHT	Dibutil hidroksitoluena
BPA	<i>Bisphenol A</i>
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CO ₂	Karbon dioksida
DEHA	Di-2-etilhexil adipate
DEHP	Di-2-etilhexilftalat
DNPH	Dinitrofenilhidrazin
DWD	<i>Drinking Water Directive</i>
ECD	<i>Electron capture detection</i>
GC	<i>Gas chromatography</i>
HCHO; CH ₂ O; FA	Formaldehid
HPLC	<i>High-performance liquid chromatography</i>
HS	<i>System headspace</i>
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> <i>International Unit of Pure and Applied Chemistry</i>
IUPAC	
KCKT	Kromatografi cair kinerja tinggi
kg	Kilogram
kPa	Kilopascal
L	Liter
mg	Miligram
mL	Mililiter
ng	Nanogram
NIAS	<i>Non intentionally added substances</i>
nm	Nanometer
NTP	<i>National toxicology program</i>
NTU	<i>Nephelometric Turbidity Unit</i>
PBT	Polibutilen tereftalat
PC	Polikarbonat
PET; PETE	Polietilen tereftalat
PP	Polipropilen
ppm	<i>Part per million</i>
pt-Co	Platinum Cobalt
PVC	Polivinil klorida
Sb	Antimon
SNI	Standar Nasional Indonesia
TDI	<i>Tolerable Daily Intake</i>
UE	<i>European Union</i>

USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
UV	Ultraviolet
WHO	<i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Air minum dalam kemasan (AMDK) berkembang pesat dalam beberapa tahun terakhir. Diperkirakan meningkatnya konsumsi air minum dalam kemasan secara global yaitu sekitar 391 miliar liter pada tahun 2007 menjadi 513 miliar liter pada tahun 2025. Di Indonesia, konsumsi air minum dalam kemasan meningkat dengan sangat cepat yakni diprediksi meningkat 50% pada tahun 2026. Penyediaan air minum dalam kemasan yang aman menjadi salah satu intervensi kesehatan masyarakat dan merupakan aspek yang menentukan sebagai negara yang maju (Ikhsan et al., 2022). Salah satu target PBB adalah memastikan akses universal terhadap air minum aman pada tahun 2030. Paparan bahan kimia dalam air minum masih menjadi kekhawatiran. Meskipun kualitas air minum diatur dan dipantau di berbagai negara, perlu peninjauan kembali standar dan pedoman secara permanen sebagai upaya peningkatan pengetahuan, baik untuk kontaminan yang telah diatur maupun yang baru teridentifikasi (Levallois & Villanueva, 2019). Pedoman WHO, yaitu *European Union (UE) Drinking Water Directive (DWD)*, *Safe Drinking Water Act of the United States Environmental Protection Agency (USEPA)*, dan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/Per/V/2010 menyatakan bahwa air minum harus memenuhi syarat kesehatan baik syarat fisika, mikrobiologis, kimiawi dan radioaktif serta dapat langsung diminum. Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia Nomor 78/M-IND/PER/11/2016 tentang Permemberlakuan Standar Nasional Indonesia Air Mineral, Air Demineral, Air Mineral Alami, dan Air Minum Embun Secara Wajib, juga mewajibkan pemberlakuan SNI pada air mineral kategori AMDK. Dalam hal ini, sebelum diedarkan produk harus memenuhi SNI melalui proses sertifikasi dan dinyatakan mendapatkan sertifikat SNI untuk menjamin keamanan, keselamatan maupun kesehatan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2010; Kementerian Perindustrian Republik Indonesia, 2016; Tsaridou & Karabelas, 2021).

Seiring dengan peningkatan jumlah konsumsi AMDK, permintaan untuk berbahan dasar plastik sebagai kemasan juga meningkat. Saat ini, botol polietilen

tereftalat (PET, dengan simbol daur ulang kode #1) dan polikarbonat (PC, dengan simbol daur ulang kode #7) merupakan jenis kemasan air yang umum digunakan untuk volume kecil dan volume besar. Sebagai alternatif, polikarbonat digunakan untuk produksi kemasan dengan kapasitas mulai dari 5 hingga 19 L. Tidak ada bahan kemasan yang sepenuhnya bersifat inert sehingga akan selalu ada interaksi dengan bahan di dalam makanan dan minuman. Zat-zat dari PET maupun PC dapat bermigrasi ke dalam air dikarenakan formulasi polimer yang kompleks, proses dan penyimpanan (misalnya adanya kotoran, hidrolisis polimer degradasi produk, kerusakan produk, dan lain-lain). Untuk perlindungan kesehatan konsumen, semua interaksi harus dikurangi seminimal mungkin. Kemasan harus memenuhi persyaratan termasuk penilaian bahan baku awal yang digunakan dan kepatuhan dengan batasan apa yang telah ditetapkan, seperti batas migrasi. Kemasan PET menunjukkan migrasi terbanyak oleh *non intentionally added substances* (NIAS) termasuk senyawa karbonil seperti formaldehid sedangkan kemasan PC umumnya menunjukkan migrasi oleh senyawa *bisphenol A* (BPA) karena BPA digunakan dalam produksi PC (Bach et al., 2014; Cincotta et al., 2018; Gerassimidou et al., 2022; Ginter-kramarczyk et al., 2022; Vilarinho et al., 2019; Welle, 2018).

Kemasan PET merupakan polimer semi-kristalin termasuk poliester, yakni polimer yang paling banyak digunakan untuk makanan dan minuman terutama air mineral, setelah menggantikan polivinil klorida (PVC) dan botol kaca di pasaran selama empat dekade terakhir ini, karena sifatnya ringan, transparan dan tahan terhadap suhu ($\sim 220^{\circ}\text{C}$). Namun, bahan PET dilaporkan mengandung sejumlah oligomer kecil dengan berat molekul rendah serta ditemukan senyawa aldehid (Alamri et al., 2021). Tidak lepas dari sifat itu, air dalam kemasan PET dapat tercemar bahan komponen dari PET. Namun, sangat sedikit perhatian yang terkonsentrasi pada perubahan potensial kualitas air setelah penyimpanan jangka panjang. Kemasan PET air minum yang digunakan secara luas menjadi perhatian karena pelepasan polutan dari PET ke dalam air yang beresiko terhadap Kesehatan (Bach et al., 2012; Dehghani et al., 2018; Tukur, 2018).

Formaldehid (HCHO ; CH_2O ; FA) merupakan salah satu senyawa aldehid yang dapat larut dalam air, terbentuk selama proses produksi PET sehingga formaldehid dapat tertinggal di dalam produk makanan dan minuman (Ambadekar et al., 2020.; Fappiano et al., 2022; Gerassimidou et al., 2022). Formaldehid

merupakan senyawa yang bermigrasi dari botol PET akibat degradasi termal. Karena toksisitasnya, diklasifikasikan sebagai salah satu polutan dalam minuman. Misalnya, dengan menelan larutan yang mengandung formaldehid 37% dapat menyebabkan kematian pada manusia. Senyawa ini sangat mudah menguap dan dapat berpindah dari botol ke dalam air minum kemasan PET. *International Agency for Research on Cancer* (IARC) telah mengklasifikasikan formaldehid sebagai karsinogen kelompok I untuk manusia pada Tahun 2004. Ambang batas bau dan rasa formaldehid dalam air masing-masing adalah 25 dan 50 mg/L. *World Health Organization* (WHO) melalui *The European Commission* menetapkan batas migrasi formaldehid sebesar 15 mg/kg (15 ppm) atau 900 µg/L menurut Kementerian Perdagangan Indonesia (Ambadekar et al., 2020; Bach et al., 2012; European Union, 2011; Hladová et al., 2019; Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, 2016; Protano et al., 2022).

Penelitian terhadap penetapan kadar formaldehid dalam air minum di beberapa negara menunjukkan adanya kadar migrasi formaldehid ke dalam air minum di bawah pengaruh pH, suhu dan waktu penyimpanan (Abe et al., 2021; Bach et al., 2014; Dehghani et al., 2018; Lugwisha et al., 2016; Redžepović et al., 2012). Di Serbia, telah dilakukan penelitian oleh Redžepović et al. (2012) terhadap kadar migrasi senyawa formaldehid pada air minum berkarbonasi dan tidak berkarbonasi dalam kemasan PET dengan volume 0,33 dan 2 L di bawah pengaruh paparan sinar matahari dengan berbagai lama penyimpanan menunjukkan adanya peningkatan kadar migrasi di bawah pengaruh lama penyimpanan dan paparan sinar matahari (Redžepović et al., 2012). Penelitian oleh Bach et al. (2014) menyimpulkan, kadar migrasi formaldehid tergantung pada jenis air. Kadar migrasi formaldehid lebih besar di bawah pengaruh paparan sinar matahari dibandingkan karbonasi (Bach et al., 2014). Selanjutnya, penelitian oleh Lugwisha et al. (2016) menyimpulkan, kadar migrasi formaldehid dalam air minum kemasan yang disimpan dalam suhu berbeda (4°C, 25-32°C, dan 32-35°C), umumnya meningkat dengan peningkatan lama penyimpanan (Lugwisha et al., 2016). Penelitian lainnya, oleh Dehghani et al. (2018) di Iran menyatakan, telah teridentifikasi kadar migrasi formaldehid dari 20 air minum kemasan PET dari produsen yang berbeda di bawah pengaruh suhu kamar dan lama penyimpanan sebesar 12-45 µg/l (Dehghani et al., 2018). Abe et al. (2021) menyebutkan, penelitian mengenai kadar migrasi formaldehid pada air minum kemasan telah

dilakukan di Italia, Jepang, Kanada, Perancis, serta di Polandia menunjukkan bahwa adanya peningkatan kadar selama penyimpanan. Variasi perbedaan kadar formaldehid dalam air minum kemasan PET juga dipengaruhi pH (Abe et al., 2021).

Beberapa penelitian mengenai penetapan kadar formaldehid dalam produk minuman menggunakan beberapa metode kombinasi mikroekstraksi fase padat headspace (HS-SPME) dan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS), kombinasi kromatografi cair-spektrometri massa, dan kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik (RP-HPLC), kromatografi cair kinerja tinggi dengan detektor hamburan cahaya evaporatif (KCKT-ELSD), kromatografi cair kinerja tinggi-ultraviolet (HPLC-UV), kombinasi kromatografi cair ultra cepat-spektrometri massa (UFLC-MS) dan kromatografi cair kinerja tinggi yang telah diderivatisasi. Metode-metode tersebut digunakan karena sensitifitas dan selektivitasnya yang tinggi untuk formaldehid yang sangat mudah menguap dan reaktif terhadap senyawa karbonil. Metode KCKT yang diderivatisasi dipilih karena ekonomis dan sederhana dibanding metode lainnya, dapat mendeteksi analit yang tidak memiliki gugus kromofor yang efisien dan kurang terionisasi. Reagen derivatisasi yang paling umum digunakan adalah 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH). Metode KCKT yang akan dilakukan berdasarkan Metode 554 *U.S Environmental Protection Agency* (1992) tentang *Determination of Carbonyl Compounds in Drinking Water* yang masih banyak digunakan hingga saat ini (Abe et al., 2021; Cincotta et al., 2018; Faria et al., 2022; Hossain et al., 2016; Jeong et al., 2015; Lugwisha et al., 2016; Marcela Melo Cardozo et al., 2021; Sebaei et al., 2018; U.S. Environmental Protection Agency, 1992; Yoshikawa et al., 2018).

Validasi merupakan verifikasi melalui pengujian dan penyediaan bukti objektif dalam mengevaluasi kinerja metode analisis yang digunakan bahwa metode analisis tersebut sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Menurut Eurachem Guide (2014), suatu metode analisis perlu divalidasi jika pengembangan metode baru, perubahan sekecil apapun dari metode standar, metode standar yang digunakan diluar ruang lingkupnya, metode yang menggunakan laboratorium analisis atau instrumen yang berbeda dan menggabungkan metode baru dan metode standar (Badan Standardisasi Nasional, 2018; Örnemark, 2014).

Oleh karena adanya migrasi formaldehid ke dalam air minum kemasan PET, maka perlu dilakukan pengembangan penelitian terhadap penentuan kadar

migrasi formaldehid dalam air minum kemasan PET dengan berbagai volume terhadap suhu dan lama penyimpanan yang berbeda-beda dengan metode KCKT yang tervalidasi untuk memastikan metode tersebut akurat, reproduibel, dapat dipercaya serta menghasilkan hasil yang baik dengan parameter meliputi kesesuaian sistem, sensitivitas, linearitas, presisi, akurasi, batas deteksi, batas kuantitas dan ketahanan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Apakah metode kromatografi cair kinerja tinggi yang telah tervalidasi dapat diaplikasikan untuk penetapan kadar migrasi formaldehid yang terdapat pada air minum dalam kemasan?
2. Apakah terdapat hubungan antara suhu dan lama waktu penyimpanan terhadap migrasi formaldehid pada kemasan PET dalam berbagai volume?
3. Berapa kadar formaldehid yang termigrasi pada air minum dalam kemasan PET ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini yaitu:

1. Mengaplikasikan metode kromatografi cair kinerja tinggi yang telah tervalidasi untuk penetapan kadar migrasi formaldehid yang terdapat pada air minum dalam kemasan.
2. Mengidentifikasi adanya hubungan antara volume air minum dalam kemasan terhadap suhu dan lama waktu penyimpanan.
3. Mengukur kadar minimum dan maksimum migrasi formaldehid yang terdapat pada air minum kemasan PET dan membandingkan dengan batas migrasi yang telah ditentukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

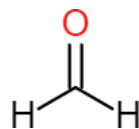
A. Air Minum dalam Kemasan (AMDK)

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum, menyatakan bahwa air minum merupakan air yang melalui proses pengolahan atau tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan baik syarat fisika, mikrobiologis, kimiawi dan radioaktif serta dapat langsung diminum. Menurut Permenperin (2016), air minum dalam kemasan (AMDK) adalah air yang telah diproses tanpa bahan pangan lainnya dan bahan tambahan pangan, dikemas, serta aman untuk diminum. Kemasan AMDK berbahan plastik berupa polietilen (PE), polipropilen (PP), polietilen tereftalat (PET), polivinil klorida (PVC) atau polikarbonat (PC). Kemasan sekali pakai dan terbuat dari plastik, harus memenuhi kriteria sebagai berikut:

- a. Memenuhi syarat tara pangan (*food grade*) dan bertanda tara pangan;
- b. Tidak bereaksi terhadap bahan pencuci dan desinfektan; dan
- c. Tidak boleh diisi ulang (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2010; Kementerian Perindustrian Republik Indonesia, 2011; Kementerian Perindustrian Republik Indonesia, 2016).

Menurut Badan Standarisasi Nasional (2006), air minum dalam kemasan mencakup air mineral dan air demineral memiliki persyaratan tidak berbau, rasa normal, warna maksimal 5 (Unit pt-Co), pH 6,0-8,5 (air mineral) dan 5,0-7,5 (air demineral) dengan tingkat kekeruhan maksimal 1,5 NTU serta dengan jumlah zat terlarut, zat organik, cemaran logam, arsen serta mikroba sesuai syarat yang ditentukan. Di Indonesia, terdapat tiga variasi kemasan AMDK berdasarkan faktor tumbuhnya yakni gelas, botol dan galon (Badan Standardisasi Nasional, 2006; Dewan guru besar IPB, 2021).

B. Formaldehid



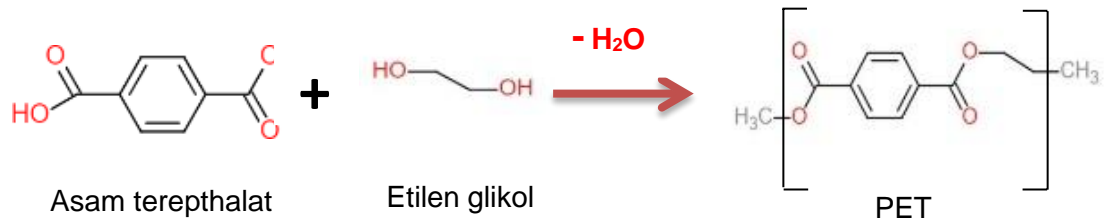
Gambar 1. Struktur formaldehid (Sebaei et al., 2018)

Formaldehid (HCHO; CH₂O; FA) dikenal sebagai *methanal* (IUPAC), *methylene oxide*, *oxymethylene*, *methylaldehyde*, *oxomethane*, *formic aldehyde* atau formalin (larutan formaldehid 36-40%). Formaldehid merupakan senyawa aldehid dengan rumus molekul CH₂O, massa relatif 30,03, merupakan cairan atau gas tidak berwarna, bau menyengat, memiliki titik didih -19,2°C, titik lebur -118°C, kepadatan relatif 1,04, tekanan uap 52,6 kPa pada suhu 33°C, dapat mudah larut dalam air pada suhu 25°C. Ambang batas rasa dan bau formaldehid dalam air masing-masing adalah 50 dan 25 mg/L. Formaldehid merupakan produk samping dari proses pembuatan plastik polietilen tereftalat (PET). Formaldehid dapat bermigrasi ke dalam air minum dan meningkat kadarnya selama penyimpanan (Abe et al., 2021; European Union, 2011; Hossein, 2018; Protano et al., 2022; Umaningrum et al., 2019).

National toxicology program (NTP) menyimpulkan bahwa formaldehid diketahui bersifat karsinogen terhadap manusia. Paparan formaldehid menyebabkan berbagai gejala atau penyakit seperti dermatitis, sakit kepala, sesak nafas, mengi, batuk kronik, hipersekresi mukus, asma, obstruksi jalan nafas kronik, bronkhitis, rinitis, faringitis, efek estrogenik dan disfungsi seksual, juga yang menyebabkan kanker dan leukemia myeloid. *International Agency for Research on Cancer* (IARC) telah mengklasifikasikan formaldehid sebagai karsinogen kelompok I untuk manusia pada Tahun 2004. *World Health Organization* (WHO) telah menetapkan batas migrasi dalam makanan sebesar 15 mg/kg (Cincotta et al., 2018; European Union, 2011; Hladová et al., 2019).

C. Polietilen Tereftalat (PET)

1. Polietilen Tereftalat (PET)



Gambar 2. Struktur dan persamaan kimia polimer PET (Welle, 2018)

Polietilen tereftalat (PET, PETE) dengan nama lain Mylar, Decron, Terylene, Recron, memiliki simbol daur ulang dengan kode #1, memiliki suhu leleh 260°C, memiliki rantai polimer yang kaku dan panjang sehingga memberikan ketahanan mekanik, ketahanan terhadap suhu (~220°C) dan ketahanan kimia. Hal tersebut menyebabkan PET menjadi bahan yang paling baik untuk botol air mineral, minuman berkarbonasi, minyak dan cairan lainnya. Polimer keluarga poliester ini memiliki sedikit aditif (30%) dalam pembuatannya. Keuntungan lainnya juga bahwa PET tidak berwarna dan transparan (jika amorf) atau tembus cahaya (jika semi-kristal), ringan, memiliki sifat penghalang gas terhadap kelembaban dan CO₂, sangat lembam dibandingkan plastik lainnya dan dapat dicampur dengan polikarbonat (PC), polipropilen (PP), kopolimer PP, dan polibutilen tereftalat (PBT) atau dimodifikasi permukaannya melalui perlakuan fisik dan kimia, serta dapat dikopolimerisasi (Bach et al., 2014; Nisticò, 2020; Tukur, 2018; Venkatachalam et al., 2012; Welle, 2018).

PET diperoleh dari reaksi polimerisasi bertahap dari asam tereftalat/ asam dikarboksilat dan etilen glikol (dialkohol). Keduanya bereaksi membentuk rantai polimer panjang, dengan air sebagai produk sampingnya. Air yang dihasilkan dapat dihilangkan dibawah suhu tinggi dan vakum sehingga menyebabkan keadaan cepat mendepolimerisasi struktur dan polimer akan mengering dan meleleh sesuai kebutuhan. Apabila terpapar sinar matahari (pada spektrum UV antara 300-330 nm), PET dapat mengalami proses fotokimia. Hal ini menyebabkan pembentukan produk samping dan bermigrasi ke dalam air, sebagai kemungkinan menjadi sumber yang membahayakan kesehatan (Bach et al., 2014;

Nisticò, 2020; Venkatachalam et al., 2012; Welle, 2018).

2. Pembentukan Senyawa Karbonil dalam Bahan PET

Proses degradasi dari bahan PET terjadi karena pengaruh faktor termal, oksidasi, hidrolitik, kimia, mekanik, radiasi dan biokimia pada periode waktu tertentu yang menyebabkan perubahan termasuk perubahan warna, pemutusan rantai polimer yang mengakibatkan penurunan bobot molekul, pembentukan asetaldehid dan lain sebagainya. Asetaldehid dan formaldehid sebagai senyawa karbonil dibentuk akibat degradasi termal dalam pembuatan PET (Bach et al., 2014; Nisticò, 2020; Venkatachalam et al., 2012).

Pembentukan senyawa karbonil (asetaldehid, formaldehid) terjadi pada ikatan rantai C-C antara dua gugus karboksil dalam etilen tereftalat sangat lemah, diikuti oleh ikatan tunggal antara gugus karboksil dan atom karbon. Pembentukan senyawa karbonil akibat degradasi termal dimulai dari pemutusan acak pada ikatan ester dalam rantai menghasilkan vinil ester dan gugus akhir karboksil. Transesterifikasi vinil ester kemudian menghasilkan vinil alkohol yang segera diubah menjadi asetaldehid. Adanya kelembaban dan asam/basa akan mempengaruhi hidrolisis sehingga dapat terjadi peningkatan hidrolisis polimer yang menyebabkan konsentrasi gugus akhir karboksil meningkat dengan cepat (Bach et al., 2012; He et al., 2021; Ray & Cooney, 2018; Venkatachalam et al., 2012).

3. Substansi yang Ditemukan dalam PET dan Botol PET Air Minum

a. Oligomer

Commission Regulation (EU) No. 10/2011 menetapkan batas migrasi tertentu dari asam tereftalat, etilen glikol, dan isoftalat masing-masing 7,5 mg/kg, 30 mg/kg dan 5 mg/kg. Tinjauan literatur masih sangat kurang menghasilkan studi terbaru tentang difusi senyawa ini ke dalam air kemasan PET. Bach et al. (2012), menyatakan hanya Mutsuga et al. (2005) telah melaporkan kadar oligomer berkisar antara 4,9 hingga 8,7 mg/kg untuk botol PET. Studi migrasi terbaru hanya Ubeda, et al. (2018), melaporkan bahwa

oligomer dari senyawa asam tereftalat, etilen glikol dan dietilen glikol pada sampel *virgin* dalam kemasan PET menunjukkan kadar maksimum dari senyawa tersebut adalah 2493 sampai 19,290 ng/g (Bach et al., 2012; European Union, 2011; Ubeda et al., 2018).

b. Logam

Jenis anorganik dapat ditemukan sebagai residu dari katalisator atau aditif yang digunakan dalam produksi PET. Antimon adalah jenis anorganik sebagai katalisator polimerisasi dalam pembuatan PET. Contohnya diantimon trioksida yang digunakan sebagai katalisator dan menghasilkan residu dengan kadar akhir di dalam PET berkisar antara 180 sampai 220 ppm, bahkan dapat meningkat hingga 550 ppm (Bach et al., 2012; Swedish Chemicals Inspectorate, 2008).

c. Senyawa karbonil

Formaldehid dan asetaldehid adalah senyawa aldehid yang bermigrasi dari botol PET sebagai produk samping dari proses pembuatan PET akibat degradasi termal. Beberapa studi mengenai kadar migrasi kedua senyawa ini telah dilaporkan di Amerika Utara, Iran Italia, Jepang, Kanada, Perancis, Polandia serta Serbia. Tingginya kadar formaldehid dan asetaldehid disebabkan perbedaan formulasi dan produksi kemasan botol (Abe et al., 2021; Bach et al., 2014; Dehghani et al., 2018; Lugwisha et al., 2016; Redžepović et al., 2012).

d. Plasticizer

Plasticizer dalam kemasan PET berguna untuk meningkatkan fleksibilitas, eksistensi, kekuatan selama penyimpanan dan kekuatan dalam proses pembuatan PET. Di-2-3tilhexilftalat (DEHP) adalah plasticizer yang banyak digunakan, juga di-2-etilhexil adipate (DEHA) biasanya digunakan dalam produk PVC untuk sebagai pengganti ftalat. Marín-Morocho et al. (2021) baru-baru ini menyelidiki potensial migrasi plasticizer dalam botol polietilene tereftalat dan menemukan migrasi plasticizer seperti dietilftalat, trietil fosfat, plasticizer dapat ditemukan akibat kontaminasi selama pemrosesan atau penggunaan daur ulang PET (Bach et al., 2012; Marín-Morocho et al., 2021).

a. Antioksidan

Antioksidan berguna untuk menghambat atau memperlambat perubahan warna dan efek oksidasi kimia dari bahan polimer. Antioksidan ditambahkan selama proses polikondensasi untuk mencegah degradasi. Produk degradasi dari antioksidan yang telah diidentifikasi dalam botol PET adalah 2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol dan 2,6-di-tert-butyl-1,4- benzokuinon (produk degradasi dari bahan tambahan polimer seperti Iragos 168 dan Irganox 1010, untuk meningkatkan stabilitas hidrolitiknya) serta 3,5-di-tert-butyl-4-hidroksibenzaldehida (produk degradasi dari dibutil hidroksitoluena (BHT)) (Bach et al., 2012; Marín-Morocho et al., 2021).

b. Stabilisator UV

Tinuvin P (2-(2H-benzotriazole-2-yl)-p-kresol) (dengan batas migrasi 1,5 mg/kg) dan Tinuvin 234 (2-(2H-benzotriazole-2-yl)-4,6-bis(1-metil-1-feniletil)-fenol (dengan batas migrasi 30 mg/kg) adalah stabilisator UV satu-satunya ditemukan dalam analisis botol PET. Senyawa ini digunakan untuk meredam UV dengan menghasilkan benzotriazole melalui mekanisme fotolisis dan fotooksidasi. Adapun produk degradasi dari stabilisator yang ditemukan dalam botol PET seperti 2,4-bis(1,1- dimetiletil)-fenol (Bach et al., 2012; Marín-Morocho et al., 2021).

c. Lubrikan

Lubrikan sebagai bahan yang meminimalkan daya rekat makanan, mengurangi gesekan atau meningkatkan elastisitas bahan. Asam karboksilat dengan rantai panjang C12 sampai C18 digunakan sebagai lubrikan. Di dalam botol PET ditemukan produk degradasi lubrikan seperti nonana, asam nonanoat, dekana (degradasi termal dari polietilen wax). Tidak ada batas migrasi untuk zat lubrikan ini (Bach et al., 2012a; Marín-Morocho et al., 2021).

d. Bisphenol A (BPA)

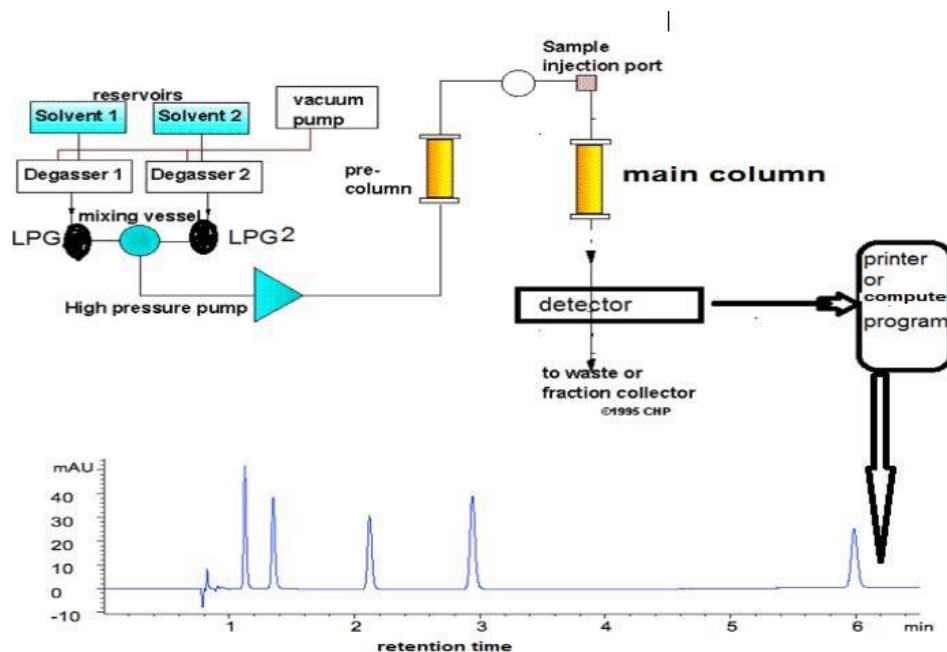
Bisphenol A adalah suatu monomer yang digunakan dalam produksi beberapa polimer seperti polikarbonat. Bisphenol A tidak digunakan dalam pembuatan botol kemasan PET. Dalam studi yang ditinjau, kadar BPA yang dihitung untuk 2 L per hari untuk orang dewasa dengan berat badan 60 kg

tidak melebihi TDI. Hasil yang sama dalam publikasi selanjutnya, penyelidikan BPA dalam air kemasan, tidak melebihi TDI. Penemuan BPA dengan konsentrasi yang rendah, konstan atau sedikit meningkat saat sebelum dan sesudah paparan panas, dapat diakibatkan karena BPA memang tidak digunakan dalam pembuatan PET. Oleh karena itu, sulit mendakwa bahan PET sebagai sumber BPA. Sumber BPA dalam kemasan PET dapat disebabkan oleh penutup botol atau daur ulang kemasan PET (Bach et al., 2012; Welle, 2018).

D. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan teknik pemisahan dalam kimia analitik yang paling akurat dan mendominasi dalam analisis kualitatif dan kuantitatif suatu produk, karena sensitivitas dan akurasinya yang tinggi. Prinsipnya yaitu larutan sampel disuntikkan ke dalam kolom yang berisi fase diam dan fase gerak dipompa pada tekanan tinggi melalui kolom. Pemisahan sampel didasarkan pada perbedaan kecepatan migrasi melalui kolom dari partisi sampel yang berbeda antara fase diam dan fase gerak. Sifat komponen yang berbeda, mempengaruhi waktu elusi yang terjadi. Senyawa pada sampel dengan afinitas yang lebih besar akan bergerak lebih lambat dengan jarak yang pendek dibandingkan jarak dari senyawa dengan afinitas yang lebih kecil. Penggunaan KCKT tidak terbatas pada sampel yang mudah menguap dan stabil secara termal serta pemilihan fase diam dan fase gerak yang luas. Sejumlah keuntungan KCKT adalah dapat digunakan untuk analisis simultan, pemurnian senyawa dan pengukuran kadar impuritas serta memiliki resolusi tinggi, memiliki selektivitas tinggi, pengulangan yang baik, ekonomis, efisien waktu dan batas deteksi rendah (Article et al., 2017; Shinde, M., et al., 2021; Parys et al., 2022).

1. Komponen Sistem KCKT



Gambar 3. Sistem KCKT (Siouffi, 2005)

a. Pompa

Pompa berfungsi memberikan tekanan pada fase gerak melalui sistem, biasanya pada laju aliran 0,4-1 mL/menit, dengan cara yang terkontrol, tepat dan akurat (Siouffi, 2005).

b. Injektor

Injektor digunakan untuk menempatkan sampel ke dalam fase gerak yang kemudian dialirkan masuk ke dalam kolom. Sistem KCKT menggunakan katup injektor untuk memisahkan dari sistem eluen bertekanan tinggi sehingga dapat meminimalisir kesalahan dan menghasilkan presisi yang baik. Mengubah loop pada injektor akan memungkinkan volume yang berbeda (jumlah tipikal 10-100 μ L atau dalam jumlah besar 1-10 mL atau volume kecil $> 2 \mu$ L) untuk disuntikkan (Siouffi, 2005).

c. Kolom

Kolom digunakan untuk mengatur pH dan untuk pertukaran ion dalam sistem KCKT (Siouffi, 2005).

d. Detektor

Detektor berfungsi untuk menerjemahkan konsentrasi sampel dalam kolom menjadi sinyal listrik. Jenis detektor pada KCKT dapat digunakan lebih dari satu secara seri, untuk memberikan peningkatan spesifitas dan sensitivitas untuk beberapa jenis analit (Siouffi, 2005).

e. Sistem data

Sistem data menerima sinyal listrik dari detektor kemudian menampilkan kromatogram dan mengintegrasikan luas puncak, sehingga operator dapat mencetak plot dan tabel untuk penilaian lebih lanjut (Siouffi, 2005).

E. Jenis KCKT

Adapun cara analit berinteraksi dengan fase diam serta pergerakan elusinya di dalam kolom tergantung pada jenis fase diam, yakni dengan cara sebagai berikut :

a. Kromatografi adsorpsi atau kromatografi fase normal

Kromatografi fase normal memiliki fase diam relatif polar, umumnya adalah silika dan fase gerak relatif bersifat nonpolar, contohnya tetrahydrofuran. Semakin meningkat polaritas zat terlarut atau analit maka zat terlarut atau analit akan tertahan lebih lama pada fase diam sehingga dapat meningkatkan waktu elusi (Article et al., 2017; Hashim, 2018).

b. Kromatografi fase terbalik

Kromatografi fase terbalik memiliki fase diam yang bersifat non polar dan fase gerak bersifat polar. Prinsip kerja kromatografi ini berdasarkan pada interaksi hidrofobik. Zat terlarut atau analit yang bersifat non polar akan tertahan lebih lama pada fase diam. Sebaliknya, semakin meningkat polaritas zat terlarut atau analit maka zat terlarut atau analit akan terelusi lebih cepat pada fase gerak sehingga dapat meningkatkan waktu elusi (Article et al., 2017; Hashim, 2018).

c. Kromatografi penukar ion.

Prinsip kromatografi ini didasarkan sifat tarik menarik antara muatan ion dari suatu zat terlarut atau analit terhadap fase diam yang memiliki muatan berbeda/berlawanan. Kromatografi ini dapat diaplikasikan untuk zat terlarut atau analit yang memiliki muatan ion dalam suatu larutan. (hader hashim, 2018).(Article et al., 2017; Hashim, 2018)

d. Kromatografi afinitas

Kromatografi afinitas didasarkan pada mekanisme *lock-and-key* sistem biologikal. Kromatografi ini memiliki mekanisme retensi yang spesifik, dimana molekul atau analit yang berikatan dengan ligan akan tetap berasosiasi dengan fase diam. Meskipun demikian, teknik ini memerlukan waktu yang lebih banyak, biaya yang lebih mahal dibandingkan teknik dengan mekanisme retensi lainnya (Article et al., 2017; Hashim, 2018).

e. Kromatografi eksklusi ukuran

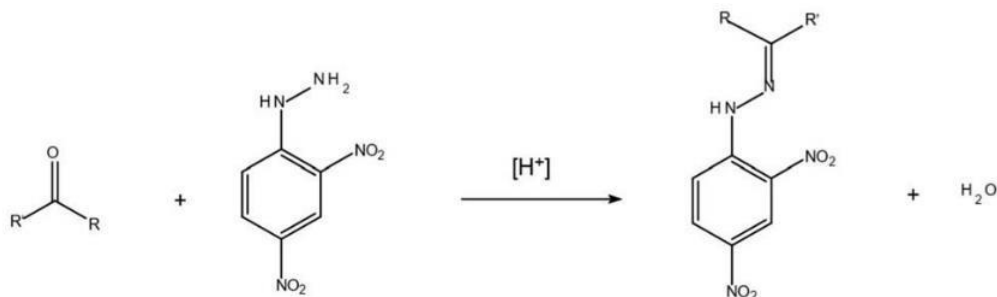
Prinsip kerja pemisahan dari kromatografi eksklusi ukuran adalah berdasarkan pada perbedaan ukuran partikel. Fase diam bertindak sebagai ayakan molekul atau analit. molekul atau analit yang kecil akan terikat pada fase diam sehingga akan lebih lama tertahan sedangkan molekul atau analit yang besar tidak dapat berikatan dengan fase diam sehingga akan lebih dulu terelusi keluar bersama fase gerak (Hashim, 2018).

F. Derivatisasi

Derivatisasi merupakan suatu modifikasi struktur kimia suatu senyawa sehingga menghasilkan senyawa baru yang memiliki sifat-sifat yang sesuai untuk analisis menggunakan KCKT. Reaksi derivatisasi merupakan modifikasi kimia yang sederhana dari zat yang membuatnya kompatibel dengan metode pemisahan yang dipilih atau mengubah zat dengan daya serap UV rendah menjadi produk yang sangat sensitif. Suatu reaksi dengan adanya agen derivatisasi dapat meningkatkan pendeteksian analit target (mengandung hidroksil, tiol, amino, karbonil dan karboksil sebagai gugus utama yang terlibat dalam derivatisasi) (Chhanikar et al., 2021; David et al., 2021).

Dalam KCKT, reaksi derivatisasi dilakukan dengan menambahkan gugus kromofor untuk lebih mudah mendeteksi UV atau gugus fluofofor untuk mendeteksi fluoresen yang lebih sensitif. Struktur kimia senyawa tetap sama, hanya saja memodifikasi gugus fungsi analit yang tidak memiliki gugus kromofor yang efisien dan kurang terionisasi agar dapat dideteksi. Reagen yang umum digunakan dalam KCKT adalah 2,4- dinitrofenilhidrazin (2,4-DNPH), 1-fluoro-2,4-dinitrobenzena, ninhidrin, 4-N- N-dimetilaminoazobenzena-4'-sulfonil klorida, benzoil klorida, fenil isosianat untuk mendeteksi sinar UV dan o-ftalaldehid, fluorescamin, 1-dimetilaminoaftalena-5-sulfonil klorida, 9-fluorenilmetil kloroformat, benzofuran untuk deteksi fluoresensi. Derivatisasi dengan 2,4-DNPH berguna dalam bioanalisis aldehid dan keton. 2,4-DNPH atau dikenal sebagai reagen Brady, digunakan untuk derivatisasi senyawa karbonil yang dihasilkan dari reaksi kondensasi dan meningkatkan sensitivitasnya sehingga dapat menyerap radiasi UV dengan sangat kuat. Reagen ini dilarutkan dalam asetonitril, metanol, atau etanol dan reaksi berlangsung dengan adanya asam. Sebagai contoh, senyawa

aldehid seperti formaldehid dapat ditentukan dalam berbagai matriks dengan adanya modifikasi gugus hidrazin yang memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang maksimal 360 nm (Chhanikar et al., 2021; David et al., 2021).



Gambar 4. Reaksi kimia antara 2,4-DNPH dan senyawa karbonil (He et al., 2021)

G. Validasi Metode Analisis

Validasi merupakan verifikasi melalui pengujian atau pemeriksaan dan penyediaan bukti objektif bahwa persyaratan yang dinyatakan cukup untuk suatu penggunaan tertentu. Proses validasi digunakan sebagai bentuk mengevaluasi kinerja metode analisis, agar memenuhi persyaratan tertentu. Metode pengujian yang digunakan dapat berupa metode baku, yaitu metode standar yang diadopsi dari badan yang berwenang seperti SNI, AOAC, ISO, U.S EPA dan sebagainya. Validasi prosedur analitis diarahkan pada tiga prosedur analitis, yaitu uji identifikasi, uji kuantitatif untuk kandungan impuritas, uji batas untuk mengontrol impuritas (Badan Standardisasi Nasional, 2018; Shinde, M., et al., 2021).

Berdasarkan pedoman International Conference on Harmonisation (ICH) (2005) mengenai validasi prosedur analisis Q2(R1), prosedur analisis terdiri atas empat jenis, yaitu :

1. Uji identifikasi merupakan uji yang dilakukan untuk memastikan identitas analit dalam sampel.
2. Uji kuantitatif untuk kandungan impuritas
3. Uji batas untuk mengontrol impuritas. Uji impuritas dapat dilakukan keduanya baik uji kuantitatif maupun uji batas secara akurat untuk mencerminkan kemurnian suatu sampel.
4. Uji kuantitatif dari sebagian zat aktif dalam sampel obat atau produk obat atau komponen lain yang dipilih dalam produk obat. Uji kuantitatif ini dimaksudkan

untuk mengukur analit yang ada dalam sampel tertentu.(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registratation of Pharmaceuticals for Human Use, 2005).

Untuk setiap jenis prosedur analisis memiliki karakteristik validasi yang berbeda, sebagaimana dapat dilihat pada tabel di bawah ini (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registratation of Pharmaceuticals for Human Use, 2005).

Tabel 1. Karakteristik validasi yang diperlukan untuk jenis prosedur analisis

Jenis prosedur analisis	Identifikasi	Pengujian untuk impuritas		Pengukuran
		Kuantitas	Batas (limit)	• Disolusi (hanya pengukuran) • Isi/kandungan
Karakteristik				
Akurasi	-	√	-	√
Presisi				
Keterulangan	-	√	-	√
Presisi antara	-	√	-	√
Spesifisitas	√	√	√	√
Batas deteksi	-	-	√	-
Batas kuantitas	-	√	-	-
Lineritas	-	√	-	√
Kisaran	-	√	-	√
Ketahanan	Karakteristik ketahanan harus dipertimbangkan pada tahap yang tepat dalam pengembangan prosedur analisis			

Sumber : International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registratation of Pharmaceuticals for Human Use. (2005). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*. November 1996. <https://doi.org/10.1002/9781118532331.ch23>

Adapun karakteristik dari validasi metode analisis beserta parameter pengujiannya menurut pedoman ICH dari Q2(R1) sebagai berikut:

A. Kesesuaian sistem

Kesesuaian sistem dimaksudkan untuk menilai kemampuan suatu metode menghasilkan adanya analit yang diharapkan (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registratation of Pharmaceuticals for Human Use, 2005). Pengujian ini dimaksudkan untuk memastikan identitas analit dan memastikan bahwa hasil dari prosedur analisis yang dilakukan akurat mengenai kandungan impuritas suatu analit. Parameter

uji yang digunakan dalam mengukur kemampuan karakteristik kesesuaian sistem adalah sebagai berikut:

1. Faktor retensi (k') atau faktor retensi (K)

Faktor retensi merupakan hasil pengurangan waktu retensi dan waktu mati (Moldoveanu & David, 2013; Ravisankar et al., 2015).

2. Resolusi

Resolusi atau daya pemisahan dua puncak yang berdekatan atau dengan kata lain sebagai jarak antara dua puncak dibagi dengan luas rata-rata puncak. Nilai resolusi $> 1,5$ menunjukkan bahwa kedua puncak terpisah secara sempurna. Untuk pengembangan metode, sebaiknya dilakukan sampai resolusi ≥ 2 . Resolusi dua senyawa dapat dihitung dengan persamaan berikut:

$$R = \frac{2(t_{R.2} - t_{R.1})}{W_2 - W_1}$$

Dimana:

R_s adalah nilai Resolusi dari dua puncak

t_R adalah waktu retensi analit

W_1 dan W_2 adalah luas area puncak 1 dan 2 (Moldoveanu & David, 2013).

3. Jumlah lempeng teori atau efisiensi (N)

Jumlah lempeng teori atau efisiensi (N) adalah tingkat pengukuran puncak yang saling berdekatan. Efisiensi (N) dapat dihitung dengan rumus :

$$N = 16 \left(\frac{t_r}{W} \right)^2$$

Dimana:

N adalah jumlah lempeng teoritis

t_R adalah waktu retensi analit

W_1 dan W_2 adalah luas area puncak 1 dan 2 (Moldoveanu & David, 2013).

4. Selektifitas atau *relative retention* atau faktor pemisahan (α)

Pengukuran selektifitas dari dua komponen dalam suatu campuran. Nilai Selektifitas (α) dapat dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\alpha = t_2 - t_a / t_1 - t_a$$

Dimana:

α adalah selektifitas atau *relative retention* atau faktor pemisahan

t_2 adalah waktu retensi puncak kedua

t_a adalah waktu retensi dihitung dari titik injeksi

t_1 adalah waktu retensi puncak pertama (Moldoveanu & David, 2013; Ravisankar et al., 2015).

5. Faktor tailing (T) atau faktor puncak asimetris

Faktor tailing digunakan untuk pengukuran derajat tailing puncak asimetris dalam mengontrol kromatografi. Peningkatan puncak asimetris akan menyebabkan penurunan resolusi, batas deteksi dan presisi. Luas puncak asimetris disebabkan konsentrasi sampel yang lebih banyak, volume injeksi yang besar, dan kerusakan kolom (Abdu Hussen, 2022; Moldoveanu & David, 2013). Untuk menghitung faktor tailing dengan menggunakan lebar puncak pada ketinggian 10% dapat digunakan persamaan sebagai berikut:

$$TF = \frac{a + b}{2a}$$

Dimana:

TF adalah faktor tailing

a adalah puncak simetris

b adalah puncak asimetris ((Moldoveanu & David, 2013; Ravisankar et al., 2015).

Tabel 2. Kriteria keberterimaan parameter kesesuaian sistem

No	Parameter	Kriteria Keberterimaan
1	Jumlah lempeng teoritikal (N)	> 2000
2	Faktor kapasitas (K)	< 1
3	Retensi relative	> 1
4	Resolusi	> 1,5
5	Faktor tailing atau asimetris	< 2
6	Relative Standar Deviation (RSD)	< 2

Sumber : Ravisankar, P., Naga Navya, C., Pravallika, D., & Sri, D. N. (2015). A review on step-by-step analytical method validation. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 5(10), 2250–3013

B. Spesifitas

Spesifitas (selektivitas) adalah kemampuan metode dalam mengukur analit baik uji impuritas/pengotor atau uji identitas untuk memastikan bahwa semua prosedur analisis yang akurat terhadap kandungan impuritas/pengotor. Pengujian spesifitas harus dilakukan selama penentuan pengotor dan validasi uji identifikasi (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005; Örnemark, 2014; Ravisankar et al., 2015; Secareanu et al., 2020).

C. Linieritas

Linieritas prosedur analisis adalah kemampuannya (dalam rentang tertentu) untuk memperoleh hasil pengujian yang berbanding lurus dengan konsentrasi (jumlah) analit dalam sampel (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005; Shinde, M., et al., 2021).

D. Kisaran (*Range*)

Kisaran prosedur analisis adalah interval antara konsentrasi atas dan bawah (jumlah) analit dalam sampel yang telah ditunjukkan bahwa prosedur analisis memiliki tingkat presisi, akurasi dan linieritas yang sesuai (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005; Shinde, M., et al., 2021).

E. Presisi (pengulangan, presisi antara, dan reproduktibilitas)

Presisi atau ketepatan prosedur analisis menunjukkan kedekatan dari seri pengukuran yang diperoleh dari sampel yang homogen di bawah kondisi yang ditentukan. Terdapat tiga tingkatan pada presisi yakni pengulangan, presisi antara dan reproduktifitas. Presisi dinyatakan sebagai standar deviasi atau koefisien variasi dari seri pengukuran. Pengulangan menunjukkan presisi di bawah kondisi yang sama selama interval waktu yang singkat. Presisi antara menunjukkan variasi dalam laboratorium seperti hari yang berbeda, analisis yang berbeda, peralatan yang berbeda, dan lain- lain. Reproduktibilitas menunjukkan ketepatan antar laboratorium (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005; Shinde, M., et al., 2021).

F. Akurasi

Akurasi atau keakuratan atau derajat kebenaran suatu prosedur analisis merupakan tingkat kedekatan antara hasil pengujian metode dengan nilai yang sebenarnya atau nilai yang dinyatakan benar (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005; Shinde, M., et al., 2021).

Terdapat dua cara penentuan akurasi, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) dan metode penambahan baku (*standard addition method*). Dalam metode simulasi, bahwa sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam plasebo (semua campuran pereaksi yang digunakan dikurang analit), lalu campuran tersebut dianalisis kemudian hasilnya dibandingkan dengan kadar standar yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya). Metode adisi atau penambahan baku dilakukan dengan cara yaitu pertama melakukan analisis atau pengukuran terhadap sampel. Kedua, menambahkan sejumlah analit atau standar yang diperiksa ke dalam sampel tersebut lalu campuran dianalisis kembali. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). Metode penambahan baku tidak dapat digunakan apabila penambahan analit dapat mengganggu hasil pengukuran, misalnya dapat menyebabkan kekurangan pereaksi, mengubah pH atau kapasitas dapar (Riyanto, 2014; Rohyami & Pribadi, 2017).

G. Batas deteksi

Batas deteksi prosedur analisis adalah jumlah analit terendah dalam sampel yang dapat dideteksi tetapi tidak perlu ditetapkan secara kuantitatif dalam kondisi percobaan yang telah dinyatakan (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005 Shinde, M., et al., 2021).

Batas deteksi dihitung menggunakan rumus:

$$\text{LOD} = S_{Da} \times 3/IC \text{ (menurut IUPAC)} \quad (1)$$

$$\text{LOD} = 3. S_{y/x}/ b \text{ (menurut Miller)} \quad (2)$$

Dimana:

S_{Da} adalah standar deviasi

IC adalah slope

$S_{y/x}$ adalah standar deviasi

b adalah slope (Ermer, J., and Miller, J.H.McB, 2005; Hossain et al., 2016; Wahed 2016; Pedrita, 2016).

H. Batas kuantitas

Batas kuantitas prosedur analisis merupakan konsentrasi terendah analit dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang diterima dalam kondisi percobaan yang ditetapkan (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registratation of Pharmaceuticals for Human Use, 2005; Shinde, M., et al., 2021; Sebaei et al., 2018).

Batas deteksi dihitung menggunakan rumus:

$$LOQ = SDa \times 10/IC \text{ (menurut IUPAC)} \quad (3)$$

$$LOQ = 10. S_{y/x} / b \text{ (menurut Miller)} \quad (4)$$

Dimana:

SDa adalah standar deviasi

IC adalah slope

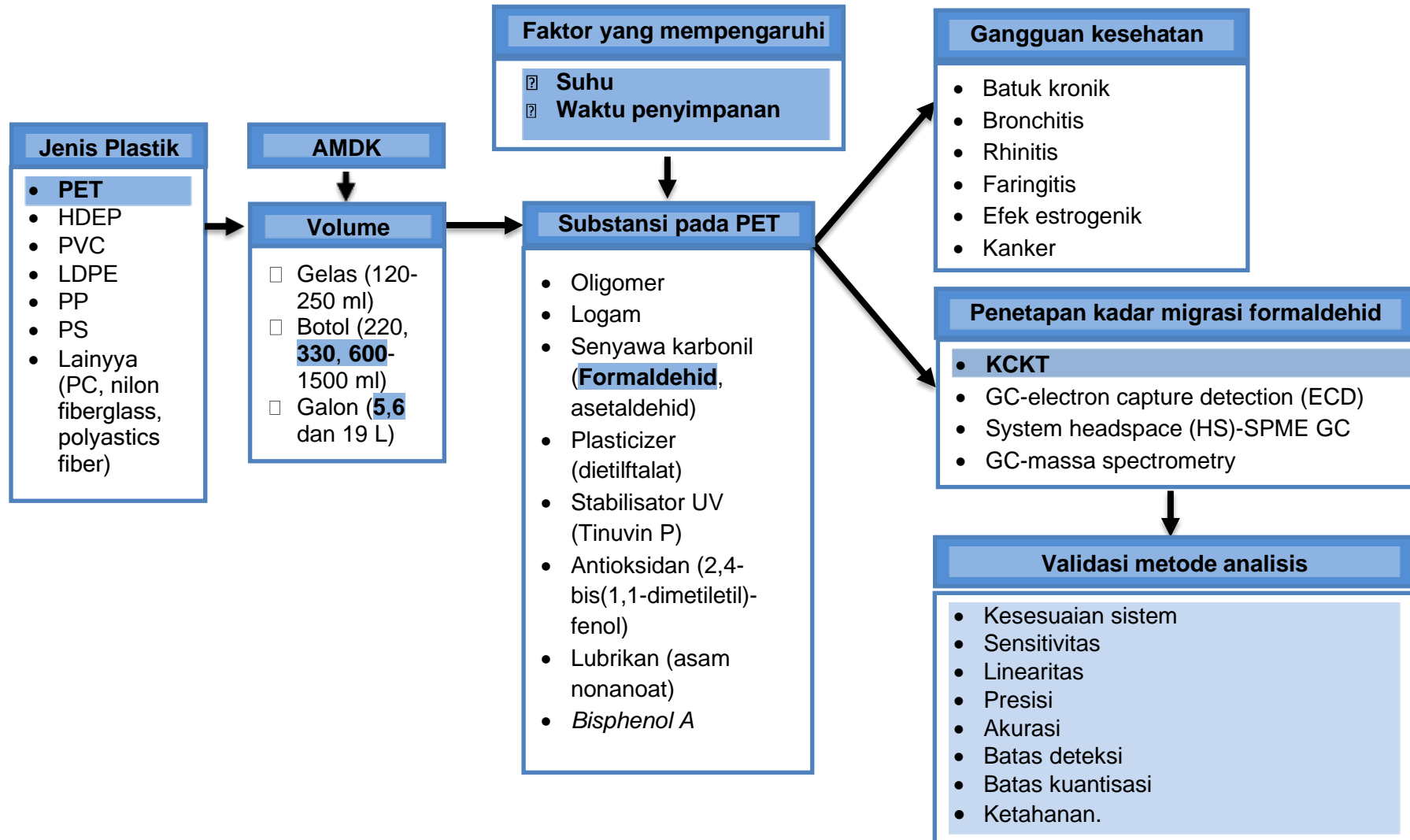
$S_{y/x}$ adalah standar deviasi

b adalah slope (Ermer, J., and Miller, J.H.McB, 2005; Hossain et al., 2016; Wahed 2016; Pedrita, 2016).

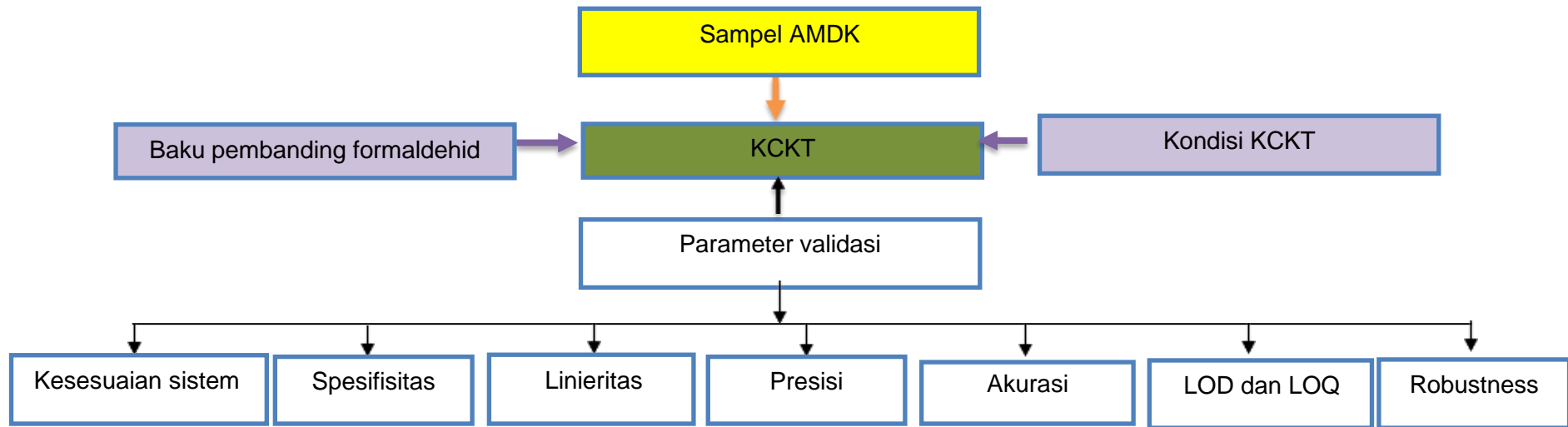
I. Ketahanan (*Robustness*)

Ketahanan prosedur analisis adalah ukuran kapasitasnya untuk tetap tidak terpengaruh oleh variasi kecil, tetapi disengaja dalam parameter metode dan memberikan indikasi keandalannya selama penggunaan yang normal (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registratation of Pharmaceuticals for Human Use, 2005; Shinde, M., et al., 2021).

H. Kerangka Konsep



I. Kerangka Konseptual



Keterangan:

- Variabel bebas
- Variabel antara
- Variabel terkendali
- Variabel tergantung
- Hubungan variabel bebas
- Hubungan variabel terkendali
- Hubungan variabel tergantung