



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI DETEKSI METABOLIT ASAM S-FENILMERKAPTURAT SEBAGAI
BIOMARKER PAPARAN BENZENA PADA POLISI LALU LINTAS
WILAYAH DEPOK**

SKRIPSI

**KARTIKA METAFISIKA
030503031X**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM SARJANA ILMU KIMIA
DEPOK
JUNI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI DETEKSI METABOLIT ASAM S-FENILMERKAPTURAT
SEBAGAI BIOMARKER PAPARAN BENZENA PADA POLISI
LALU LINTAS WILAYAH DEPOK**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

**KARTIKA METAFISIKA
030503031X**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI SARJANA ILMU KIMIA
DEPOK
JUNI 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Kartika Metafisika

NPM : 030503031X

Tanda Tangan : ...

Tanggal : ...

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Kartika Metafisika
NPM :030503031x
Program Studi :S1 Reguler Departemen Kimia FMIPA UI
Judul Skripsi :Studi Deteksi Metabolit Asam s-fenilmerkapturat
sebagai Biomarker Paparan Benzena pada Polisi Lalu
Lintas Wilayah Depok

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi S1 reguler Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. rer. nat. Budiawan (.....)
Penguji : Dra. Siswati Setiasih Apt. Msi (.....)
Penguji : Dra. Susilowati M. Si (.....)
Penguji : Drs. Erzi Rizal Azwar (.....)

Ditetapkan di :
Tanggal :

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Studi Deteksi Metabolit Asam S-fenilmerkapturat sebagai Biomarker Paparan Benzena dan Korelasi Paparan Benzena dengan Faktor Merokok dan Emisi Kendaraan Bermotor pada Polisi Lalu Lintas Wilayah Depok”.

Setelah melalui perjalanan panjang dan melelahkan, akhirnya skripsi ini dapat saya susun dan diharapkan dapat bermanfaat tidak hanya bagi adik-adik mahasiswa yang akan meneruskan penelitian ini, tetapi juga dapat menjadi bagian kecil kontribusi saya terhadap kesehatan lingkungan.

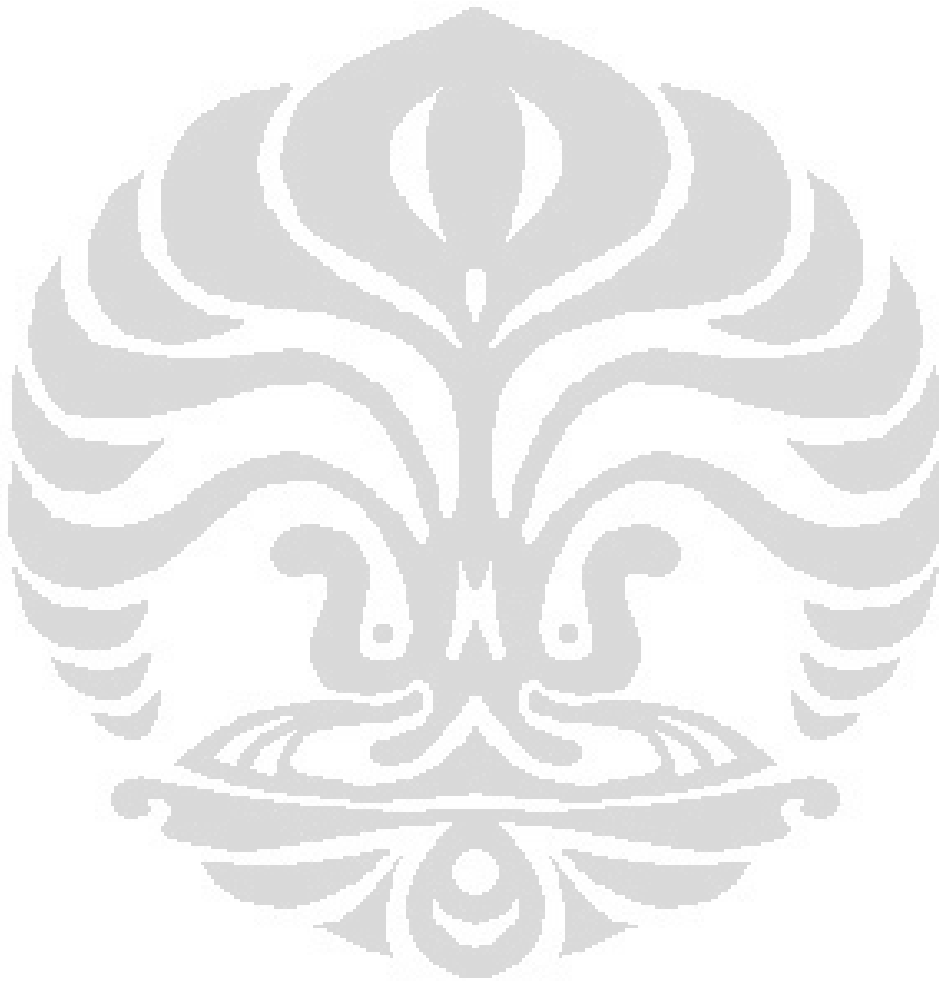
Tidak ingin berpanjang lebar, melalui lembar ini saya ingin mengucapkan beribu terima kasih kepada :

1. Allah SWT, tidak cukup kata yang dapat menggambarkan rasa syukurku kepada-Mu
2. Dr. rer. nat Budiawan beserta Mba Neera Khairani, dua pembimbing saya yang senantiasa memberikan masukan dan dukungan hingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Fery, kak Ratih, dan kak Adien tiga partner perjuangan skripsi, terima kasih banyak atas kebersamaan kita.
4. Kasatlantas Polres Metro Depok, dan Intelkam Polda Metro Jaya yang dengan senyum membantu dalam proses pengadaan sampel.
5. Dosen-dosen yang bersedia dengan senang hati menjadi subjek kontrol penelitian ini.
6. Kak Rasyid, Kak Marcel, Novi, dan Alfin: Rekan lab. afiliasi yang bersedia dengan ikhlas membantu dalam rangka menyelesaikan pengukuran sampel.
7. Mamah Endang, papah Teguh, dan Dita, terima kasih atas doa, pengertian, dukungan materi dan kata semangat yang selalu diberikan. Maaf jika belum bisa memberikan yang terbaik.
8. *Nae Sarang Ajosshi* yang telah memberikan masukan, dan support sehingga memberikan energi lebih untuk menjalani tugas akhir ini sampai selesai.

9. Saudaria Berseri, Asramaers ++, Akasias, Teman MIKIM05, kestariers BEM UI 2009 dan saudari RDTYWM: keluarga kedua di MIPA semoga jika nanti kita berjuang masing-masing, silaturahmi kita tetap terjalin erat. Dan terakhir kepada teman-teman yang tidak dapat diucapkan namanya satu-persatu: Chin gudeul Gomawossoyo... saranghaeyo...

Penulis

2010



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kartika Metafisika
NPM : 030503031x
Program Studi : S1 Reguler
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**STUDI DETEKSI METABOLIT ASAM S-FENILMERKAPTURAT
SEBAGAI BIOMARKER PAPARAN BENZENA PADA POLISI LALU
LINTAS WILAYAH DEPOK**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 30 Juni 2010
Yang menyatakan

(Kartika Metafisika)

ABSTRAK

Nama : Kartika Metafisika
Program Studi : S1 Reguler Kimia FMIPA UI
Judul : **Studi Deteksi Metabolit Asam s-fenilmerkapturat sebagai Biomarker Paparan Benzena pada Polisi Lalu Lintas Wilayah Depok**

Benzena dikenal sebagai salah satu senyawa karsinogen. IARC telah menggolongkan benzena sebagai senyawa karsinogenik golongan 1 yang menunjukkan paparan benzena sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Paparan dari aktivitas merokok dan emisi kendaraan bermotor pada polisi lalu lintas secara terus menerus akan mengakibatkan tingginya resiko paparan benzena sehingga perlu dilakukan kajian resiko paparan benzena terhadap polisi lalu lintas khususnya di wilayah Depok yang merupakan kota penyangga ibukota Jakarta. Asam s-fenilmerkapturat (SPMA) dalam urin merupakan metabolit spesifik terhadap paparan benzena sehingga representatif sebagai biomarker paparan benzena. Rata-rata konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang merokok, polisi lalu lintas yang tidak merokok, dan kontrol memberikan hasil $150,44 \pm 75,13 \mu\text{g/g}$ kreatinin, $70,44 \pm 64,21 \mu\text{g/g}$ kreatinin, dan $14,3 \pm 19,61 \mu\text{g/g}$ kreatinin. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa faktor emisi kendaraan bermotor, lama bekerja serta merokok meningkatkan resiko paparan benzena polisi lalu lintas.

Kata Kunci : benzena, SPMA, biomarker, kreatinin, KCKT-UV.
xv+73 halaman ; 22 gambar; 7 tabel
Daftar Pustaka : 52 (1982-2009)

ABSTRACT

Name : Kartika Metafisika
Study Program : Chemistry S1 Regular FMIPA UI
Judul : **Detection Study of Metabolite S-phenylmercapturic acid as Biomarker of Traffic Policemen Benzene Exposure in Depok Area.**

Benzene has been known as one of the carcinogen agent. IARC had been categorized benzene as carcinogen compound in group 1 that indicates benzene exposure very harmful to human health. Exposure over and over from smoking activities and automobile emission to traffic policemen, will resulting a high risk benzene exposure, as a result, risk study of benzene exposure need to be done toward traffic policemen, specially in Depok area as Jakarta's buffer zone. S-phenylmercapturic acid (SPMA) in urine is specific metabolite to benzene exposure, so it represents as biomarker benzene exposure. SPMA concentration average in smoking traffic policemen, nonsmoking traffic policemen and control respectively, give a result $150,44 \pm 75,13 \mu\text{g} / \text{g creatinine}$, $70,44 \pm 64,21 \mu\text{g} / \text{g creatinine}$, dan $14,3 \pm 19,61 \mu\text{g} / \text{g creatinine}$. The statistical test result, show that automobile emission, working duration as traffic policemen, and smoking habit factor can increase traffic policemen benzene exposure risk.

Keyword : benzene, SPMA, biomarker, creatinine, HPLC-UV.
xv+73 pages ; 22 pictures; 7 tabel
Bibliography : 52 (1982-2009)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORSINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Penelitian Sebelumnya	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Benzena	5
2.1.1 Sifat Fisika dan Kimia Benzena	5
2.1.2 Sumber Paparan Benzena	6
2.1.3 Manfaat Benzena	9
2.1.4 Toksikokinetika Benzena	9
2.1.5 Pengaruh Toksisitas Benzena terhadap Kesehatan	13
2.1.6 Faktor yang dapat Mempengaruhi Metabolisme Benzena	15
2.1.6.1 Senyawa Lain yang dapat Mempengaruhi Metabolisme Benzena	15
2.1.6.2 Peran Enzim Sitokrom P450 terhadap Toksisitas Benzena	16
2.1.7 Pedoman Penilaian Paparan Benzena	17
2.2 Asam S-Fenilmerkapturat (SPMA)	17
2.2.1 Glutation sebagai Senyawa Pembentuk SPMA	17
2.2.2 SPMA sebagai Biomarker Paparan Benzena dalam Urin	20
2.3 Kreatinin	21
2.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi detector UV-Visibel (KCKT-UV) Fasa Terbalik	23

3. METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian.....	25
3.2 Populasi dan Sampel.....	25
3.3 Pengumpulan Data dan Sampel.....	25
3.5 Pengolahan Data.....	26
3.6 Lokasi Penelitian.....	26
3.7 Bahan dan Peralatan.....	27
3.7.1 Bahan Kimia.....	27
3.7.2 Peralatan.....	27
3.8 Cara Kerja.....	27
3.8.1 Analisis Kreatinin.....	27
3.8.1.1 Preparasi Larutan Standar Kreatinin.....	28
3.8.1.2 Analisis Kreatinin Sampel Urin.....	28
3.8.2 Analisis SPMA.....	28
3.8.2.1 Pembuatan Larutan Stok Standar SPMA.....	29
3.8.2.2 Verifikasi Metode Analisis SPMA.....	29
3.8.2.3 Preparasi dan Pengukuran Standar SPMA.....	30
3.8.2.4 Analisis SPMA Sampel Urin.....	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Hasil.....	32
4.1.1 Deskripsi Sampel.....	33
4.1.2 Pemilihan dan Pengkategorian Sampel.....	32
4.1.3 Verifikasi Metode Analisis SPMA.....	34
4.1.3.1 Kondisi Optimum Analisis.....	34
4.1.3.2 Kurva Kalibrasi (Linearitas).....	34
4.1.3.3 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ).....	35
4.1.3.4 Uji Keterulangan.....	35
4.1.3.5 Perolehan Kembali.....	35
4.1.4 Analisis SPMA dalam Urin.....	35
4.2 Pembahasan.....	39
4.2.1 Analisis SPMA dengan Instrumentasi KCKT-UV Fasa Terbalik.....	39
4.2.2 Analisis Data Konsentrasi SPMA dalam Urin.....	43
4.2.2.1 Resiko Paparan Benzena pada Polisi Lalu Lintas.....	43
4.2.2.2 Resiko Paparan Benzena dari Rokok.....	44
4.2.2.3 Resiko Paparan Benzena Dilihat dari Konsumsi Rokok Perhari.....	44
4.2.2.4 Resiko Paparan Benzena dari Emisi Kendaraan Bermotor.....	46
5. KESIMPULAN DAN SARAN	49
6. DAFTAR REFERENSI	51
7. DAFTAR LAMPIRAN.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur Benzena.....	5
Gambar 2.2.	Grafik Rata-rata Konsentrasi Benzena berdasarkan Sumber Paparan Benzena.....	8
Gambar 2.3.	Metabolisme Benzena..	12
Gambar 2.4.	Mekanisme karsinogenesis dari katekol sebagai metabolit benzena.....	15
Gambar 2.5.	Rumus Struktur Glutation-SH.....	18
Gambar 2.6.	Rumus Struktur GSSG	18
Gambar 2.7.	Perubahan pre-PMA menjadi SPMA.....	19
Gambar 2.8.	Hasil Konjugasi GSH dengan Metabolit Benzena.....	19
Gambar 2.9	Mekanisme secara umum Metabolisme Pembentukan Asam Merkapturat.....	20
Gambar 2.10	Metabolisme Pembentukan kreatinin pada manusia.....	22
Gambar 2.11	Sistem Alat KCKT.....	24
Gambar 4.1	Diagram Prosentase Aktivitas Merokok Polisi Lalu Lintas Wilayah Depok.....	33
Gambar 4.2	Grafik Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas yang Merokok.....	38
Gambar 4.3	Grafik Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas yang Merokok.....	39
Gambar 4.4	Grafik Konsentrasi SPMA pada Kontrol.....	39
Gambar 4.5	Kromatogram KCKT Analisis Sampel tanpa Penambahan Standar Baku SPMA.....	41
Gambar 4.6	Kromatogram KCKT Analisis Sampel dengan Penambahan Standar Baku SPMA 20 mg/L.....	41
Gambar 4.7	Grafik Perbandingan Rata-rata Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/g}$ kreatinin) pada Polisi Lalu Lintas dengan Kontrol.....	43
Gambar 4.8	Grafik Perbandingan Rata-rata Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/g}$ kreatinin) pada Polisi Lalu Lintas yang Merokok (PL perokok) dengan Rata-rata Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas Tidak Merokok (PL Non perokok).....	44
Gambar 4.9	Grafik Perbandingan Rata-rata Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas yang Merokok lebih dari atau Sama dengan 10 Batang Rokok Perhari dengan Polisi Lalu Lintas yang Merokok Kurang dari 10 Batang Rokok Perhari.....	46

Gambar 4.10	Grafik Perbandingan Rata-rata Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas yang Tidak Merokok dengan Kontrol.....	47
Gambar 4.11	Grafik Korelasi Konsentrasi SPMA dengan Lama Bekerja Polisi Lalu Lintas.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Konsentrasi Benzena dalam BBM Produksi Pertamina	7
Tabel 4.1.	Jumlah Sampel berdasarkan Kategori Perokok dan Non Perokok.....	32
Tabel 4.2.	Jumlah Sampel berdasarkan Jumlah Rokok yang Dikonsumsi Perhari.....	32
Tabel 4.3.	Tabel Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas yang Merokok Lebih dari 10 Batang Rokok/hari.....	36
Tabel 4.3	Tabel Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas yang Merokok Kurang dari 10 Batang Rokok/Hari.....	37
Tabel 4.4	Tabel Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas Tidak Merokok	37
Tabel 4.5	Tabel Konsentrasi SPMA Kontrol.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Data Kondisi Analisis Asam s-fenilmerkapturat (SPMA).....	54
Lampiran 2	Perhitungan Statistik.....	64
Lampiran 3	Kuisisioner.....	67
Lampiran 4	Bagan Cara Kerja.....	70

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Benzena merupakan senyawa yang dapat mengakibatkan kanker. IARC (*Institute Agency Research of Cancer*) mengategorikan sifat karsinogenik benzena ke dalam golongan 1(1) yang menunjukkan paparan benzena sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Paparan benzena dosis tinggi terus menerus selama 1 tahun dapat mengakibatkan kelainan produksi darah (hematopoietik) seperti penyakit anemia aplastik, pansitopenia, non-hodkin limfoma, dan leukemia(2,3). Penyakit darah tersebut disebabkan sifat genotoksik yang dapat mengakibatkan aberasi kromosom pada sel sumsum tulang belakang sebagai tempat produksi darah(4).

Walaupun benzena berbahaya, namun keberadaan benzena di lingkungan tidak dapat dihindari. Selain mudah menguap, sumber paparan benzena lekat dengan kehidupan sehari-hari diantaranya asap rokok, bahan bakar minyak, bahan baku dan limbah industri, pembakaran batu bara, maupun asap kendaraan bermotor(5).

Bahan bakar minyak (contoh: bensin dan solar) terdiri dari senyawa organik yang mudah menguap (*Volatile Organic Compounds*), salah satu dari senyawa tersebut adalah benzena. Penggunaan BBM pada kendaraan bermotor dapat mengemisikan benzena dan senyawa organik volatil lainnya ke lingkungan sehingga besar kemungkinan terjadinya paparan benzena kepada pekerja di sekitar jalan raya seperti polantas, pedagang asongan, supir bus, kernet, dan lain-lain secara terus-menerus.

Polisi lalu lintas merupakan subyek yang memiliki peluang terpapar benzena setiap hari. Menurut hasil wawancara terhadap hampir keseluruhan populasi polisi gatur lalu lintas di wilayah Depok (6/4/2010), jam kerja polisi lalu lintas di jalan raya lebih dari 8 jam perhari, frekuensi kerja 7 hari perminggu disertai dengan rata-rata lama bekerja lebih dari 3 tahun. Selain dari emisi kendaraan bermotor, paparan benzena terhadap polisi lalu lintas tersebut dipertinggi dengan kebiasaan merokok

sebagian besar polisi gatur lalu lintas di wilayah Depok dengan lama merokok lebih dari 10 tahun.

Jam kerja dan frekuensi kerja di jalan raya, serta kebiasaan merokok polisi lalu lintas di wilayah Depok merupakan faktor utama paparan benzena dengan konsentrasi paparan yang cukup signifikan, namun hingga saat ini di Indonesia khususnya di Depok belum ada kebijakan mengenai pembagian jam kerja yang tepat dan pelayanan kesehatan terkait paparan terhadap emisi kendaraan bermotor dan faktor lain yang dapat mempengaruhi kesehatan polisi lalu lintas.

Tingkat paparan benzena dalam tubuh pekerja dapat dilakukan dengan *Human Biomonitoring* agar nantinya diproses lebih lanjut untuk melindungi pekerja dari risiko bahaya senyawa benzena. *Human Biomonitoring* benzena dapat dilakukan dengan mengukur biomarker sebagai penanda terjadinya paparan benzena dalam tubuh seperti benzena yang diekshalasi, hasil metabolisme benzena dalam darah, dan urin. Salah satu metabolit penanda paparan benzena adalah asam s-fenilmerkapturat yang terbentuk dari hasil konjugasi oksida benzena dengan senyawa glutathione-SH di hati yang berfungsi untuk detoksifikasi toksikan yang masuk ke dalam tubuh.

SPMA (asam s-fenilmerkapturat) memiliki keunggulan sebagai biomarker paparan benzena karena SPMA merupakan senyawa spesifik hasil metabolisme benzena. Berbagai metode pengukuran SPMA telah banyak dikembangkan agar sensitif terhadap konsentrasi kecil SPMA dengan melakukan pengayaan (*enrichment*) konsentrasi SPMA (6, 7), serta penggunaan metode pengukuran SPMA dengan berbagai instrumentasi kimia menunjukkan batas deteksi 1 µg/liter urin atau dibawahnya yang menunjukkan keunggulan SPMA sebagai biomarker (8).

Melihat begitu signifikan bahaya benzena terhadap kesehatan, dan besar kemungkinan paparan benzena akibat emisi kendaraan bermotor terhadap polisi lalu lintas, perlu dilakukan uji paparan benzena dengan mengukur konsentrasi metabolit asam SPMA dalam urin sebagai biomarker serta hubungan besar konsentrasi SPMA dengan faktor lain penyebab paparan benzena terhadap polisi lalu lintas di wilayah Depok.

1.2 Rumusan Permasalahan

Risiko paparan benzena dari emisi kendaraan bermotor pada polisi lalu lintas tergolong tinggi karena frekuensi dan durasi kerja yang memungkinkan polisi lalu lintas terpapar benzena terus-menerus disertai dengan paparan benzena yang berasal dari rokok sehingga perlu dilakukan kajian risiko paparan benzena dengan SPMA dalam urin sebagai biomarker.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan paparan benzena pada polisi lalu lintas yang merokok lebih besar dari polisi lalu lintas yang tidak merokok melalui identifikasi SPMA dalam urin.
2. Mengetahui tingkat risiko paparan benzena dari rokok maupun emisi kendaraan bermotor pada polisi lalu lintas melalui identifikasi SPMA dalam urin.

1.4 Hipotesis

1. Paparan benzena pada polisi lalu lintas lebih dibandingkan dengan kontrol.
2. Polisi lalu lintas yang merokok berisiko terpapar benzena lebih besar dibandingkan polisi lalu lintas yang tidak merokok.
3. Paparan dengan emisi kendaraan bermotor secara berkesinambungan berisiko terpapar benzena ditandai dengan positif terbentuknya SPMA dalam urin.

1.5 Penelitian Sebelumnya

Berbagai metode telah dikembangkan seperti penelitian Melikian et al. (1999, 2002) menggunakan standar radiolabel SPMA dan penggunaan SPE (*Solid Phase Extraction*) dianalisis dengan *electrospray-tandem mass spectrometry-selected*

Universitas Indonesia

reaction monitoring (LC-ES-MS/MS-SRM)(6), Penggunaan GC-MS dan ELISA(9,10), serta LC-MS yang banyak dimanfaatkan untuk *human biomonitoring* SPMA(11, 12). Walaupun memberikan respon sensitif terhadap dosis rendah SPMA dalam urin, akan tetapi penggunaan SPE (*Solid Phase Extraction*), dan derivatisasi (untuk kromatografi gas) membuat metode-metode tersebut tidak ekonomis dan sulit untuk diaplikasikan pada *monitoring* rutin sehingga perlu dilakukan metode lain yang lebih murah, dan praktis dalam pengukuran SPMA.

Tharnpoopasiam et al. (2004)(13), dan Inoue et al. (2000)(14) telah melakukan identifikasi SPMA memanfaatkan KCKT-UV sebagai instrumen, menurunkan pH urin menjadi <2 untuk mengonversi pre-PMA menjadi SPMA dan proses pemurnian dengan LLE yang hingga saat ini masih efektif digunakan untuk biomonitoring SPMA. Sterz et al. 2009 melakukan perbandingan terhadap metode yang selama ini dipakai untuk memaksimalkan konversi pre-PMA menjadi SPMA didapatkan hasil bahwa pada pH $<1,1$, keseluruhan pre-PMA telah dikonversi menjadi SPMA.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Benzena

2.1.1 Sifat Fisika dan Kimia Benzena (15)

Benzena atau benzol merupakan senyawa organik tak berwarna dengan aroma khas. Senyawa benzena termasuk golongan senyawa aromatik karena senyawa siklik dan datar ini memiliki 3 ikatan rangkap yang dapat berkonjugasi(16). Benzena digunakan sebagai pelarut karena sifatnya yang non polar dan dalam suhu kamar berwujud cair.

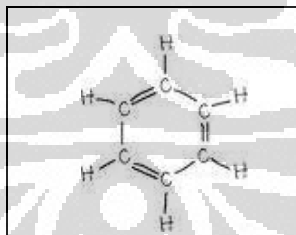
Berikut ini adalah sifat fisika dan kimia benzena:

Nama umum : Benzena

Nama IUPAC : Benzena

Nama lain : *Annulene, benzine, benzolo, benzole, benzol, zoolaphtha, cyclohexatriene, mineral naphtha, motor benzol, phenylhydride, pyrobenzol, dan phyrobenzole*

Bentuk struktur molekul :



Gambar 2.1. Struktur Benzena

Rumus molekul : C_6H_6

Berat molekul : 78,11 g/mol

Titik leleh : $5,5^{\circ}C$

Titik didih : $80,1^{\circ}C$

Titik nyala : $-11^{\circ}C$

Densitas : 0.878 g/cm^3
Kelarutan dalam air pada suhu 25^0 C : 0,188 %.

2.1.2 Sumber Paparan Benzena

Benzena merupakan senyawa alami yang berasal dari minyak bumi dan batu bara. Benzena telah terdistribusi secara luas ke lingkungan(7) seiring dengan penggunaan bahan bakar minyak dan batu bara sebagai sumber energi untuk industri dan kendaraan bermotor.

Hingga tahun 1990 di sejumlah negara, fungsi TEL (*Tetra Etil Lead*) digantikan dengan senyawa aromatik untuk meningkatkan bilangan oktan pada mesin mobil. Bilangan oktan adalah suatu pengukuran yang menunjukkan kemampuan bahan bakar minyak untuk terbakar merata serta seberapa mampu mencegah terjadinya *knocking* pada ruang bakar. Dalam bahan bakar kendaraan bermotor, benzena dapat meningkatkan bilangan oktan karena benzena termasuk senyawa siklis dengan enam atom karbon yang saling mengikat dengan ikatan rangkap terkonjugasi.

Sebagai peningkat bilangan oktan, benzena termasuk kedalam kelompok “*dirty octane*” karena kotor terhadap mesin dan lingkungan. Pada pembakaran senyawa benzena dan aromatik lainnya terbentuk *gum* (getah). Endapan getah menjadi deposit yang mengotori ruang bakar. Deposit yang terbentuk akan berbentuk kerak yang nantinya akan meningkatkan rasio tekanan dan suhu ruang bakar mengakibatkan detonasi, meningkatkan kebutuhan oktan pada mesin dan meningkatkan emisi gas buang beracun sebagai hasil pembakaran tak sempurna yaitu CO, NO_x, dan UHC (*Unburned hydrocarbon*)(41) termasuk di dalamnya benzena itu sendiri.

Emisi benzena ke lingkungan tergantung dari pemakaian katalitik konverter dari suatu kendaraan. Apabila kendaraan menggunakan katalitik konverter maka kemungkinan pembakaran sempurna akan lebih besar sehingga benzena dapat

terbakar dengan baik. Namun di kota-kota besar di Indonesia terutama angkutan umum, masih kurang memperhatikan aspek tersebut.

Berdasarkan data Bapedal dan Lemigas 2000, konsentrasi benzena dalam produk BBM (Bahan Bakar Minyak) adalah:

Tabel 2.1 Konsentrasi Benzena dalam BBM Produksi Pertamina (17)

	Jakarta	Luar Jakarta
Premium harga: Rp 4.500/liter)	3% V	3 % V
Premix harga: Rp 6800/liter	9 % V	11% V
Super TT harga: Rp 7.000/liter	14% V	13% V

(Sumber : IVERS 2002)

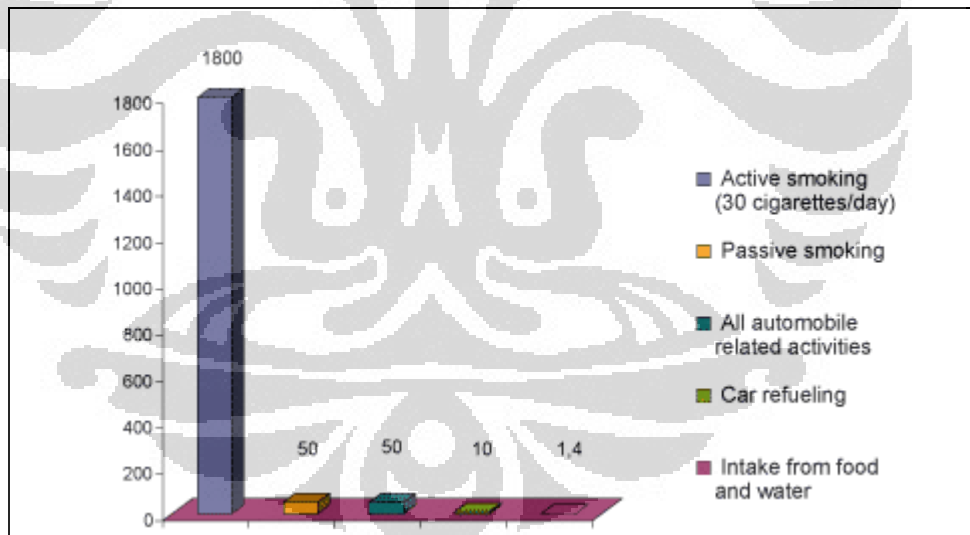
Diketahui pula nilai *Research Octane Number* (RON) pada jenis bensin Premium 87,5, Pertamina 92 dan Pertamina plus 95,5(42).

Dengan demikian semakin tinggi kualitas bensin diperlihatkan dari tingginya kualitas teknis yang dihasilkan dan kurang memperhatikan aspek kesehatan manusia(17) dilihat dari semakin tinggi konsentrasi benzena seiring dengan peningkatan harga dan kualitas BBM yang terlihat pada tabel di atas.

Menurut Keputusan Direktur Jenderal Minyak dan Gas Bumi Nomor 3674 K/24/DJM/2006(43) dan 3675 K/24/DJM/2006(44) mengenai spesifikasi bahan bakar jenis bensin dan solar tidak dijelaskan secara detail mengenai peraturan kandungan benzena dalam bahan bakar, sehingga belum ada batasan yang jelas mengenai kandungan benzena yang diperbolehkan terdapat dalam bahan bakar yang dipasarkan di Indonesia.

Faktor utama lain dari paparan benzena berkonsentrasi tinggi adalah berasal dari rokok. Perokok adalah subjek yang rawan terkena paparan benzena. Pada rokok yang secara luas dijual di pasaran, kandungan benzena berkisar 45 μg /batang rokok. Sedangkan pada rokok lokal, konsentrasi benzena lebih tinggi 10 kali lipat. Pada penelitian terhadap paparan individu, diketahui bahwa dari 6-10 kali asap rokok yang terhirup oleh perokok lebih besar daripada non perokok, serta sekitar 90% paparan benzena pada perokok berasal dari rokok(18).

Sebagai perbandingan telah didapatkan data dari WHO terhadap paparan benzena di Kanada dan USA pada tahun 1993, diketahui paparan tertinggi terhadap benzena adalah perokok aktif melebihi perokok pasif, pekerja diindustri migas, udara perkotaan, makanan, dan minuman yaitu 1800 μg benzena /hari untuk perokok yang rata-rata mengkonsumsi 30 rokok setiap harinya. Sedangkan dalam konsentrasi kecil, benzena terdapat pada makanan dan minuman(19).



Gambar 2.2 Grafik Rata-rata Konsentrasi Benzena berdasarkan Sumber Paparan Benzena(19) .

Adapun pekerja yang berisiko terpapar benzena adalah pekerja produksi bahan bakar minyak; pekerja pada industri yang menggunakan bahan baku benzena seperti industri cat, plastik, kulit sintetis, karet, dan lain-lain, pekerja pengisian bahan

bakar pada kendaraan bermotor; pekerja yang bekerja di jalan raya dan mengalami paparan langsung emisi kendaraan bermotor seperti supir angkutan, penjaga tol, dan polisi lalu lintas(4).

2.1.3 Manfaat Benzena

Manfaat utama dari benzena adalah sebagai pelarut pada industri berbasis kimia dan farmasi. Benzena merupakan senyawa intermediet pembuatan senyawa lainnya seperti etilbenzena pada sintesis stirena, kumena pada pembuatan fenol dan nilon, sikloheksana sebagai resin nilon, dan nitrobenzena untuk sintesis anilin. Benzena juga berfungsi sebagai prekursor pembuatan uretan, klorobenzena dan anhidrida maleat(15). Dulu benzena banyak digunakan sebagai pelarut, namun karena bersifat karsinogenik, pemanfaatan benzena menjadi dibatasi. Di industri otomotif, konsentrasi benzena ditingkatkan pada bahan bakar sebagai pengganti timbal yang dapat meningkatkan bilangan oktan(20).

2.1.4 Toksikokinetika Benzena(20, 21)

Toksikokinetika merupakan studi untuk mengetahui suatu zat asing masuk ke dalam tubuh serta kemungkinan yang terjadi setelah zat tersebut memasuki tubuh. Toksikokinetika meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dari senyawa benzena.

Absorpsi benzena ke dalam tubuh dapat melalui 3 jalur ekstravaskular yang meliputi jalur pernafasan (inhalasi), mulut (oral), dan kulit (dermal). Risiko terbesar pada polisi lalu lintas baik dari kebiasaan merokok maupun paparan lingkungan adalah melalui inhalasi.

Distribusi benzena merupakan proses perpindahan senyawa benzena setelah diabsorpsi ke dalam tubuh ke organ tubuh lainnya. Studi distribusi terhadap manusia

menunjukkan bahwa setelah benzena terabsorpsi melalui inhalasi, langsung didistribusikan ke target organ melalui darah. Lipofilisitas benzena yang tinggi memungkinkan terakumulasinya benzena ke jaringan lemak. Studi terhadap mencit setelah diberikan paparan benzena selama 4 jam, menunjukkan bahwa metabolit benzena dominan terakumulasi pada sumsum tulang.

Produk hasil metabolisme dari benzena menyebabkan peningkatan toksisitas benzena dan menginduksi terjadinya kerusakan DNA. Diawali dengan perubahan senyawa benzena di hati menjadi bentuk teroksidasinya oleh enzim sitokrom P450 2E1 (CYP2E1).

Oksida benzena berkesetimbangan dengan oksepin. Dari senyawa oksida benzena, terbentuk berbagai macam metabolit sekunder dari benzena, yaitu:

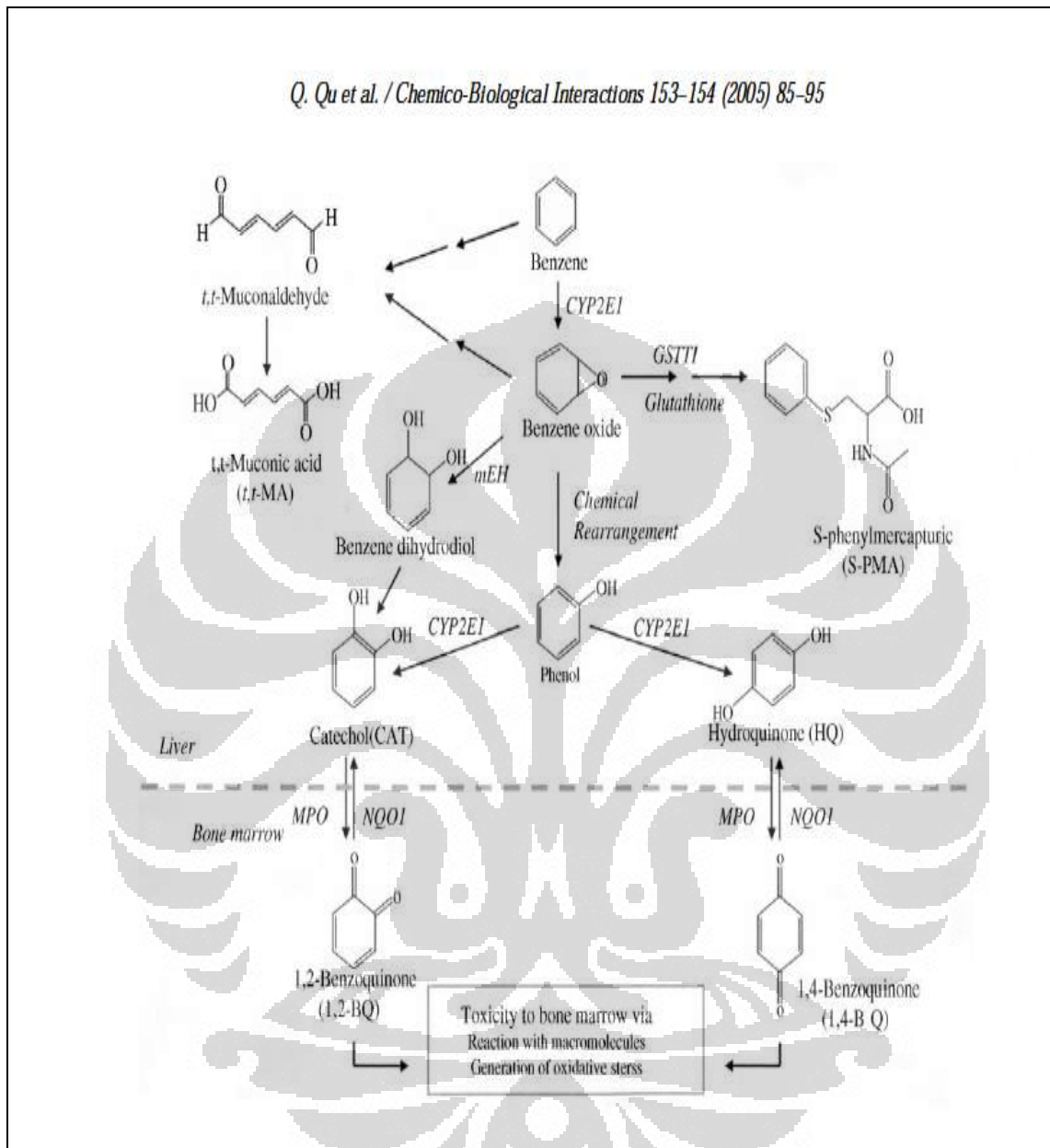
Pembentukan epoksida dihidrodiol dengan enzim epoksida hidrolase, kemudian dirubah menjadi katekol dengan enzim dihidrodiol dehidrogenase (DHDD).

Selanjutnya terjadi penataan ulang nonenzimatik oksida benzena menjadi fenol yang kemudian mengalami oksidasi dengan enzim sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) menjadi senyawa katekol dan hidrokuinon. Katekol mengalami kesetimbangan dengan 1,2-benzokuinon dan hidrokuinon berkesetimbangan dengan 1,4- benzokuinon. Senyawa katekol dan hidrokuinon mengalami oksidasi menjadi 1,2,4-benzenotriol. Studi lain menunjukkan oksidasi fenol menjadi katekol dan hidrokuinon diaktifasi oleh enzim P-450 monooksigenase sedangkan perubahan benzena menjadi oksida benzena diaktifasi oleh enzim sitokrom CYP2E1. Enzim Myeloperoksidase (MPO) prostaglandin sintase, dan eosinophil peroxidase mengubah katekol menjadi 1,2 benzokuinon dan hidrokuinon menjadi 1,4-benzokuinon. Diantara ketiga enzim tersebut, MPO diketahui memiliki konsentrasi paling besar dan secara langsung dapat membioaktivasi fenolik yang berasal dari benzena menjadi kuinon yang reaktif.

Reaksi berjalan secara berkesetimbangan dengan adanya NAD(P)H kuinon oksidareduktase (NQ01) yang merubah kembali 1,2-benzokuinon menjadi katekol, dan 1,4-benzokuinon menjadi hidroquinon.

Oksida benzena juga mengalami konjugasi dengan senyawa glutathion-SH menjadi 1-glutationil-2-OH-3,5-sikloheksadiena(22) dan dikonversi pada ginjal menjadi asam s-fenilmerkapturat.

Pembukaan cincin benzena menjadi trans-trans-mukonaldehid, dan dihidrogenasi menjadi 6-hidroksi-2,4-t,t-heksadienal dengan enzim alkohol dehidrogenase (ADH), dan asam 6 okso-t,t-heksadienoat dengan aldehyd dehidrogenase (ALDH). Selanjutnya terjadi reaksi reduksi sekunder yaitu 6-hidroksi-2,4-t,t-heksadienal menjadi 1,6-dihidroksi-2,4-t,t-heksadiena, 6 okso-t,t-heksadienoat menjadi asam t,t-mukonat yang merupakan metabolit benzena pada urin, dan 6 okso-t,t-heksadienoat serta 6-hidroksi-2,4-t,t-heksadienal dikonversi menjadi asam 6-hidroksi-2,4-t,t-heksadienoat.



Gambar 2.3 Metabolisme Benzena (23)

Eliminasi merupakan proses pengeluaran zat asing yang masuk ke dalam tubuh baik dalam bentuk senyawa awal maupun hasil metabolitnya. Diketahui bahwa sebesar 10-50% senyawa benzena terinhalasi dikeluarkan dalam bentuk senyawa aslinya melalui ekshalasi bergantung pada aktifitas metabolisme dan kuantitas lipid dalam tubuh.

Studi terhadap pekerja yang terpapar 100 ppm benzena diketahui diekskresikan sebesar 13,2 % fenol, 1,6% katekol, 10,2 % hidrokuinon, 0,5% 1,2,4 benzenatrion, 1,9 % asam t,t-mukonat. Studi lain menunjukkan sebesar 0,11 % benzena terabsorpsi diekskresikan dalam bentuk SPMA(10).

2.1.5 Pengaruh Toksisitas Benzena terhadap kesehatan

Selama beberapa dekade telah ditemukan bahwa benzena merupakan salah satu penyebab terjadinya penyakit darah. Pada paparan kronis dapat terjadi penyakit darah seperti leukimia akut, anemia aplastik, dan limfoma non-hodkin disebabkan kelainan sel stem yang berfungsi sebagai produsen sel-sel darah pada sumsum tulang akibat metabolit benzena. WHO 1996 telah memperkirakan paparan benzena $0,17 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dapat meningkatkan risiko leukimia 1 per 1.000.000 penduduk (39).

Penelitian yang dilakukan oleh Low et al. 1995 pada tikus menunjukkan bahwa benzena dapat mengakibatkan tumor pada organ sistem pembentukan darah, kelenjar zymbal, kelenjar susu, ovarium, dan paru-paru. Hal ini menunjukkan karsinogenesitas benzena dipengaruhi oleh kemampuan enzim pada organ tertentu untuk memetabolisme benzena(24).

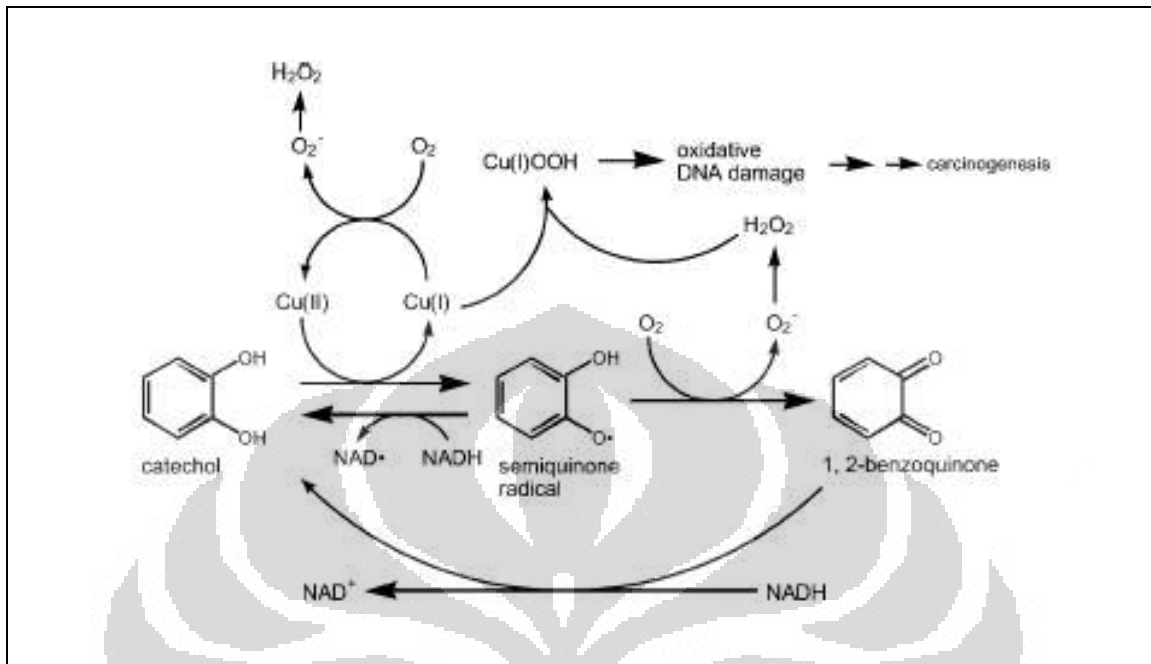
Pada paparan benzena konsentrasi rendah, prosentase hidrokuinon terbentuk lebih besar daripada benzena. Adanya epoksida hidrolase juga menstimulasi pembentukan hidrokuinon dengan keberadaan fenol. Peran epoksida hidrolase pada peningkatan hidroksilasi kedua pada benzena belum jelas tapi dapat dimungkinkan menstabilkan CYP2E1 untuk melanjutkan hidroksilasi fenol(25).

Hubungan sebab akibat antara paparan benzena dosis tinggi terhadap toksisitasnya telah diketahui sejak abad ke 19. Menurut Rugo et al. 1997, hematotoksitas benzena tergantung pada jumlah dan durasi paparan(22). Pada paparan tingkat tinggi (konsentrasi benzena di udara >100 ppm) kemungkinan

terjadinya penyakit anemia aplastik berkisar 1/100 orang terpapar , sedangkan pada paparan dosis rendah (10-20 ppm) terjadinya anemia aplastik berkisar 1/10000 orang.

Penyebab terjadinya hematotoksik pada darah bukan disebabkan oleh senyawa benzena itu sendiri. Hasil metabolisme benzena yaitu katekol dan kuinon akan terbawa ke sumsum tulang yang dapat mengoksidasi sel-sel pada sumsum tulang tersebut.

Katekol yang berasal dari benzena teroksidasi dengan bantuan ion Cu(II) yang dikonversi menjadi Cu(I) menghasilkan radikal semikuinon serta menstimulasi produksi enzim MPO. Reaksi berlangsung setimbang dengan adanya NADH menjadi NAD radikal yang mereduksi kembali radikal semikuinon menjadi katekol, sumber lain menunjukkan enzim NQO1 sebagai pereduksi 1,2-benzokuinon menjadi katekol(1). Radikal semikuinon akan dikonversi menjadi 1,2- benzokuinon dengan bantuan O_2 menjadi $\cdot O_2^-$. $\cdot O_2^-$ kemudian akan menjadi senyawa peroksida yang selanjutnya bereaksi dengan Cu(I) menjadi CU(I)OOH yang dapat menyebabkan karsinogenesis pada sumsum tulang(27).



Gambar 2.4 Mekanisme karsinogenesis dari katekol sebagai metabolit benzena (26)

2.1.6 Faktor yang Dapat Mempengaruhi Metabolisme Benzena (21)

2.1.6.1 Senyawa Lain yang Dapat Mempengaruhi Toksisitas Benzena

Efek toksisitas benzena dipengaruhi oleh hasil metabolisme benzena. Terdapat berbagai zat kimia lain yang dapat menginduksi atau menghambat enzim pada metabolisme benzena yang akan mempengaruhi dampak toksisitas dalam tubuh yang diantaranya adalah toluena, etanol, dan fenol.

Menurut Gut et al. 1993, etanol dan benzena dapat menginduksi pembentukan isoenzim P-450, dan CYP2E1 pada tikus dan kelinci. Baarson et al. 1982 melakukan studi *in vivo* pada mencit dengan membandingkan paparan benzena dengan etanol dan tanpa etanol. Hasil yang didapatkan adalah dengan penambahan etanol pada benzena dapat meningkatkan toksisitas benzena.

Toluena, dan aseton diketahui dapat menurunkan toksisitas benzena karena menjadi inhibitor terhadap CYP2E1 dengan benzena. Berdasarkan studi yang dilakukan Inoue et. al. 1988, toluena dapat menghambat metabolisme benzena menjadi fenol.

2.1.6.2 Peran Enzim Sitokrom P450 terhadap Toksisitas Benzena

Sitokrom P450 merupakan enzim yang berperan mengoksidasi senyawa eksogenus dan obat yang masuk ke dalam tubuh organisme. Lebih dari 11500 spesies sitokrom P450 yang telah ditemukan dan diidentifikasi pada semua jenis organisme yaitu hewan, tumbuhan, fungi, hingga bakteri. Dalam metabolisme benzena peran enzim sitokrom P450 menjadi sangat penting karena dapat meningkatkan toksisitas benzena yaitu dengan mengoksidasi benzena menjadi oksida benzena.

Metabolisme senyawa Benzena terdiri dari fasa I dan fasa II. Pada fasa I senyawa mengalami biotransformasi menjadi lebih polar dengan oksidasi oleh enzim. Sedangkan pada fasa II senyawa yang tidak cukup polar akan mengalami konjugasi dengan senyawa endogen dalam hati yaitu dengan Glutation-SH dan dikatalisis oleh enzim GSTT1 agar dengan cepat dapat diekskresi di ginjal(23,27).

Sitokrom P450 adalah superfamili dari spesies enzim CYP2E1. Sitokrom P450 merupakan enzim di hati yang berfungsi untuk mengoksidasi senyawa eksogenus lipofil yang masuk ke dalam tubuh suatu organisme. Reaksi yang paling umum dikatalisis oleh sitokrom P450 adalah reaksi monooksigenase yang merupakan reaksi penyisipan satu senyawa oksigen ke dalam substrat organik (RH).



CYP2E1 bersifat spesifik terhadap beberapa substrat seperti parasetamol, etanol, aseton, isoniasid, benzena, dan lain-lain.

2.1.7 Pedoman Penilaian Paparan Benzena

Terdapat nilai acuan sebagai standar minimal paparan terhadap manusia. Pedoman penilaian paparan zat asing sangat dibutuhkan sebagai upaya preventif untuk meminimalisasi risiko bahaya yang akan ditimbulkan oleh paparan benzena. Menurut *American Conference of Governmental Industrial Hygienist* (ACGIH 2006) pada paparan internal ditunjukkan dengan nilai *Biological Exposure Index* (BEI) atau Indeks Paparan Biologik yang menunjukkan tingkatan kewaspadaan dilihat dari batasan biomarker zat asing (benzena) terdeteksi. Nilai BEI untuk S-PMA adalah 25 µg/gr kreatinin(28). Paci et. al 2007 melakukan uji untuk mengetahui apakah nilai BEI sebesar 25 µg/gr kreatinin yang dikeluarkan oleh ACGIH sesuai dengan metode pengayaan pre-PMA menjadi SPMA. Dari penelitian yang dilakukan diketahui kemungkinan nilai BEI dengan metode pengayaan SPMA berkisar 50 µg/gr kreatinin (50).

2.2 Asam S-Fenilmerkapturat (SPMA)

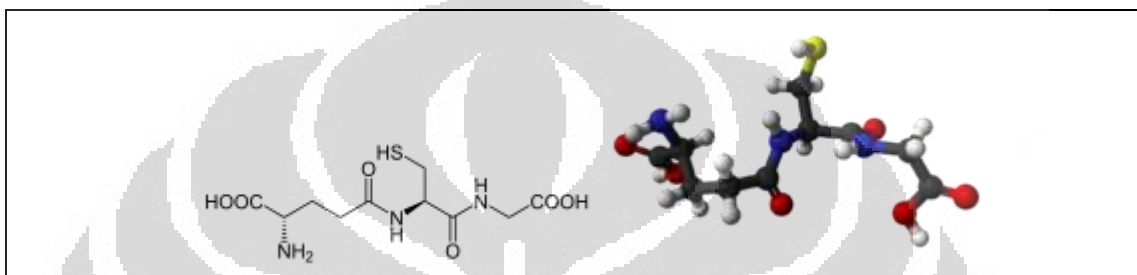
2.2.1 Glutation sebagai Senyawa Pembentuk SPMA

SPMA merupakan produk hasil konjugasi antara oksida benzena dengan glutathion-SH. Oksida benzena berpotensi toksik apabila bereaksi menjadi senyawa benzokuinon. Keberadaan glutathion menjadi sangat penting karena berfungsi mengkonjugasi senyawa oksida benzena menjadi SPMA yang bersifat kurang toksik dan lebih hidrofilik sehingga dapat diekskresikan melalui urin.

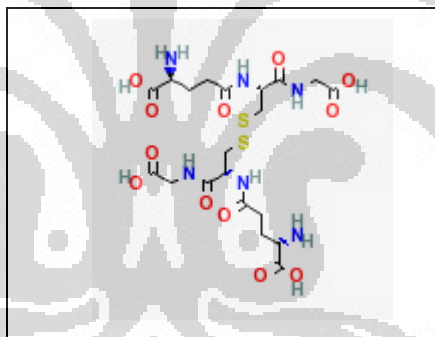
Telah diketahui benzena diubah menjadi intermediet reaktif sehingga meningkatkan toksisitas benzena yaitu dengan membentuk oksida benzena. Selanjutnya terhidroksilasi berupa konjugat yaitu konjugat glukoronida yang akan mengkonjugasi oksida benzena sehingga bersifat lebih polar dan dapat dieskresikan

di urin. Konjugat ini merupakan produk detoksifikasi karena dapat mengeliminasi pembentukan intermediet toksik benzena(21).

Glutation merupakan senyawa tripeptida yang berfungsi sebagai antioksidan. Glutation ada dalam bentuk tereduksi Glutation-SH (GSH) dan Glutation disulfida teroksidasi (GSSG). Pada sel dan jaringan yang sehat, glutathion terdiri dari 90% GSH dan sisanya adalah GSSG.



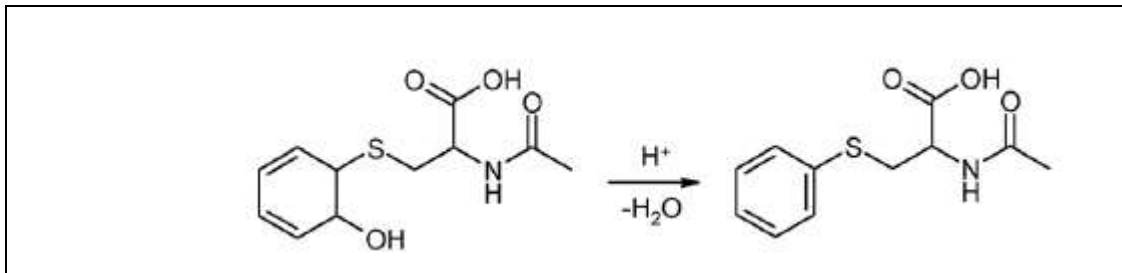
Gambar 2.5 Rumus Struktur Glutation-SH (29)



Gambar 2.6 Rumus Struktur GSSG (30)

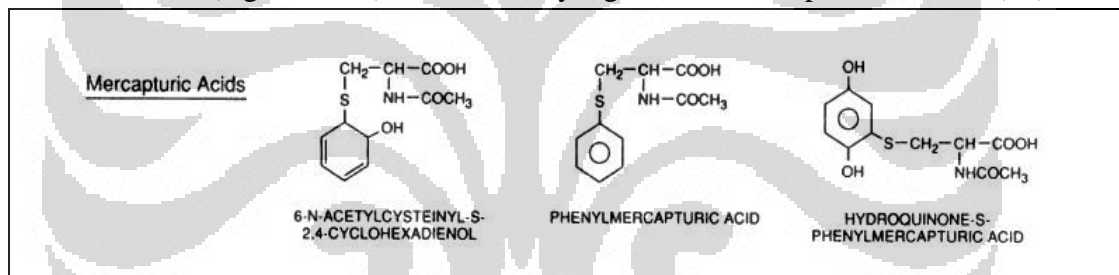
Dalam bentuk tereduksi, gugus tiol pada sistein dapat menjadi donor ($H^+ + e^-$) pada molekul oksida benzena membentuk SPMA. Pada saat mendonasikan elektron, glutathion menjadi reaktif, namun langsung bereaksi dengan glutathion reaktif yang lain membentuk glutathion disulfida (GSSG).

Oksida benzena dapat bereaksi dengan glutathion dengan enzim glutathion transferase menghasilkan asam aprefenilmerkapturat. Dalam kondisi asam, metabolit tersebut akan diaromatisasikan dengan dehidrasi menjadi SPMA yang dapat dianalisis di urin.

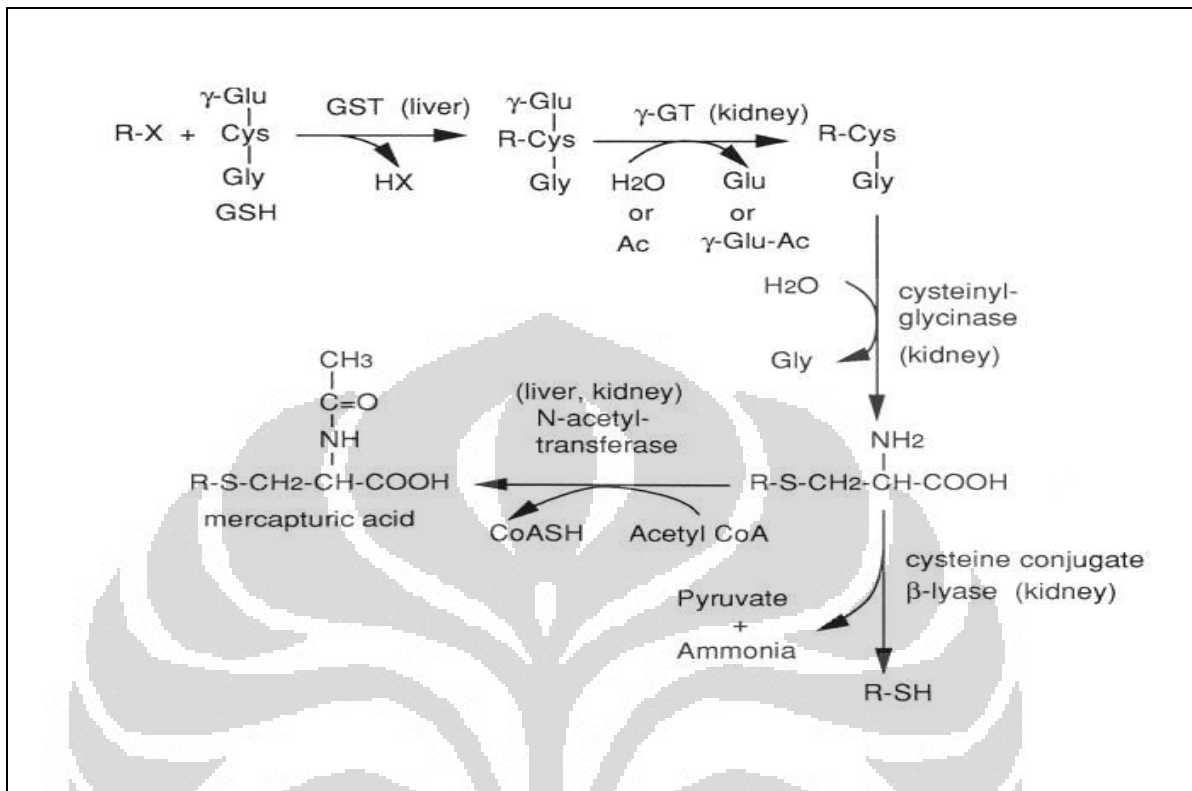


Gambar 2.7 Perubahan pre-PMA menjadi SPMA(31)

Metabolit 2-(S-glutathionil) hidrokuinon telah teridentifikasi secara in-vitro pada campuran metabolisme mikrosomal yang diinkubasi dengan benzena atau fenol dengan keberadaan glutathion yang dimungkinkan terbentuk dari reaksi antara glutathion dengan benzokuinon, intermediet reaktif yang berasal dari oksidasi hidrokuinon. Asam hidrokuinon-s-fenilmerkapturat didapatkan dari pembentukan metabolisme 2-(s-glutathionil) hidrokuinon yang diidentifikasi pada urin tikus(21).



Gambar 2.8 Hasil Konjugasi GSH dengan Metabolit Benzena (24)



Gambar 2.9 Mekanisme secara umum Metabolisme Pembentukan Asam Merkapturat (32)

Enzim yang dapat mengkatalisis reaksi pembentukan SPMA adalah GSTT1, spesies enzim dari superfamili GST (glutation transferase).

2.2.2 *Human Biomonitoring* Metabolit SPMA sebagai Biomarker Paparan Benzena dalam Urin

SPMA merupakan senyawa yang paling spesifik untuk mengetahui besar paparan benzena dalam tubuh. Terdapat 0.11% SPMA yang dikeluarkan dari 1 ppm paparan benzena dengan waktu paruh 9.1 jam(32). Analisis asam s-fenilmerkapturat dengan KCKT-UV, KCKT-MS, GC-MS, dan imunoassay menunjukkan limit deteksi 1µg/liter urin atau dibawahnya menunjukkan keunggulan SPMA sebagai biomarker karena sensitif terhadap paparan rendah benzena(19).

Universitas Indonesia

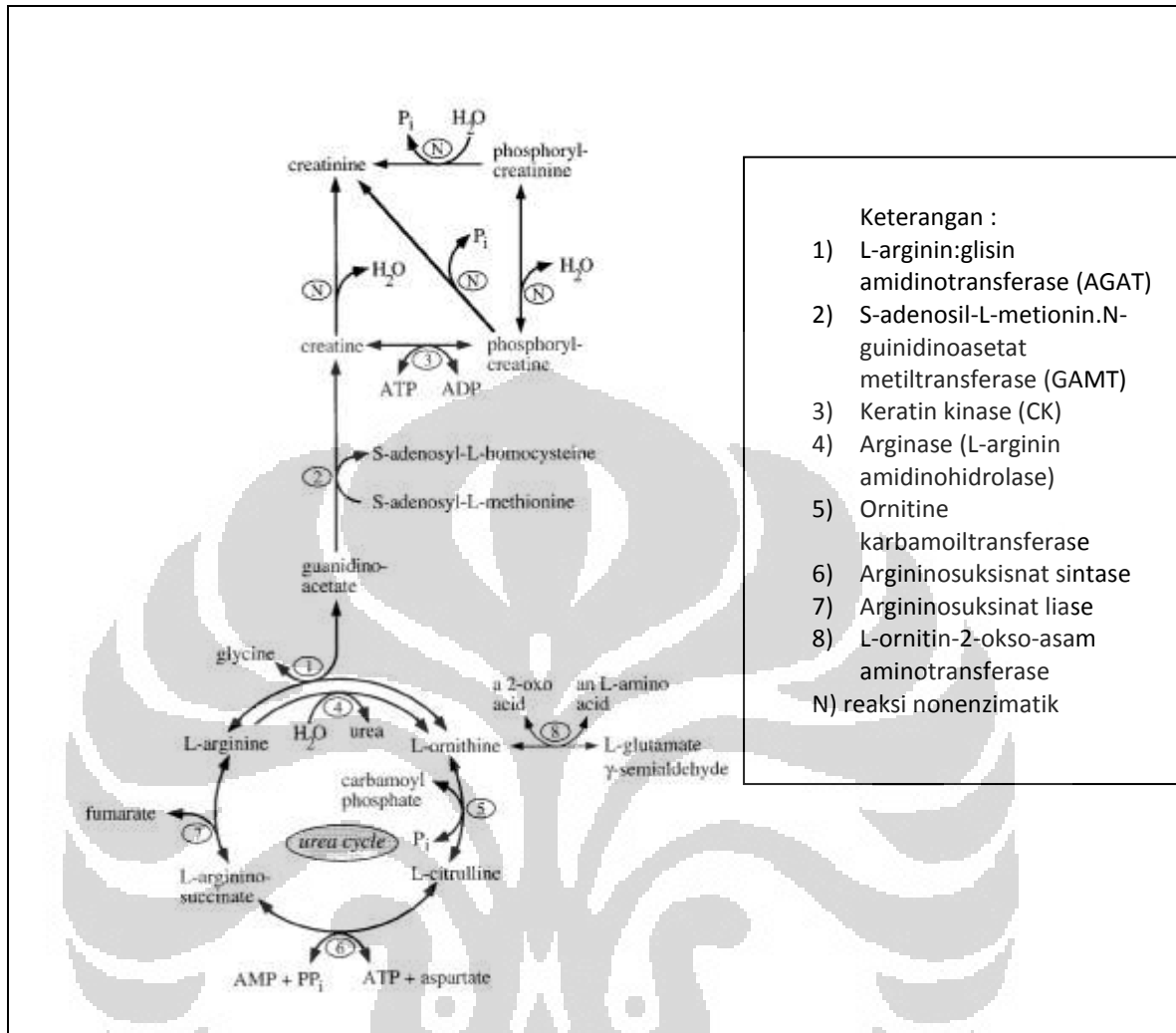
SPMA merupakan biomarker yang spesifik terhadap paparan benzena dibandingkan dengan biomarker lainnya sehingga dapat mewakili secara menyeluruh paparan terhadap benzena. Beberapa peneliti telah melakukan investigasi terhadap keberadaan benzena dengan biomarker SPMA dalam urin dan menggunakannya untuk mengetahui risiko paparan benzena kepada beberapa objek penelitian. Secara umum metode yang dipakai adalah dengan melakukan pemekatan dan pemurnian menggunakan Ekstraksi fasa padat ataupun ekstraksi cair cair kemudian penentuan dilakukan dengan menggunakan KCKT atau KCKT-MS. Thampoopasiam et. al 2004 melakukan analisis terhadap SPMA dengan menggunakan ekstraksi cair cair kemudian diukur dengan KCKT-UV pada 205 nm, prosentase *recovery* berkisar 97% sehingga metode ini ekonomis dan baik untuk pengukuran SPMA secara rutin(34).

Sterz et. al 2009 melakukan perbandingan terhadap metode yang selama ini dipakai untuk memaksimalkan konversi pre-PMA menjadi SPMA. Dengan membandingkan peak rasio perubahan pre-PMA menjadi SPMA diketahui bahwa pada pH <1 perubahan pre-PMA menjadi SPMA telah tercapai(31).

2.3 Kreatinin (35)

Kreatinin adalah produk hasil degradasi kreatin dan kreatin fosfat pada otot yang terbentuk mendekati konstan dalam tubuh sekitar 2% dari kreatin yang diproduksi perhari. Dari otot, kreatinin yang terbentuk berdifusi ke darah dan diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk urin.

Kreatin sebagai prekursor pembentukan kreatinin dalam tubuh dihasilkan dari reaksi antara arginin dan glisin dengan gambaran umum metabolisme pada gambar 2.10:



Gambar 2.10 Metabolisme Pembentukan kreatinin pada manusia
(35)

Berdasarkan studi *in vitro*, sebanyak 1,1% kreatin dan 2,6% fosfokreatin dikonversi secara nonenzimatik menjadi kreatinin dengan keseluruhan konversi sebesar 1,7% perhari. Karena pembentukan kreatinin dari kreatin mendekati konstan, dan 90% total kreatin dalam tubuh dapat ditemukan dalam jaringan otot skelet, maka ekskresi kreatinin dapat diasumsikan sebagai massa total otot.

Karena volume urin yang dikeluarkan berbeda-beda setiap harinya, maka konsentrasi SPMA tidak dapat dinyatakan dalam volume urin kecuali dilakukan

Universitas Indonesia

pengumpulan sampel 24 jam. Maka menurut Ginsberg et al., Sessoms et al., Shaw et al. 1983 serta Lemann et. al 1987 agar pengumpulan sampel dapat dilakukan dengan singkat, kreatinin digunakan sebagai rasio senyawa referensi pada matriks yang sama sebagai faktor koreksi karena konsentrasi kreatinin dalam urin mendekati konstan setiap harinya (45,46).

2.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Detektor Ultra Violet Fasa Terbalik (KCKT-UV Fasa Terbalik) (36, 37).

KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) merupakan instrumentasi modern yang menggunakan prinsip kromatografi dalam bentuk pemisahannya. Keunggulan KCKT adalah sensitif terhadap kuantitas senyawa yang terukur hingga skala nanogram dan dapat memisahkan berbagai senyawa sekaligus. Walau demikian, kekurangan KCKT diantaranya adalah waktu analisis serta perlu adanya optimisasi metode disesuaikan dengan sampel yang akan dianalisis sehingga tidak ekonomis dari segi waktu penggunaan dan biaya.

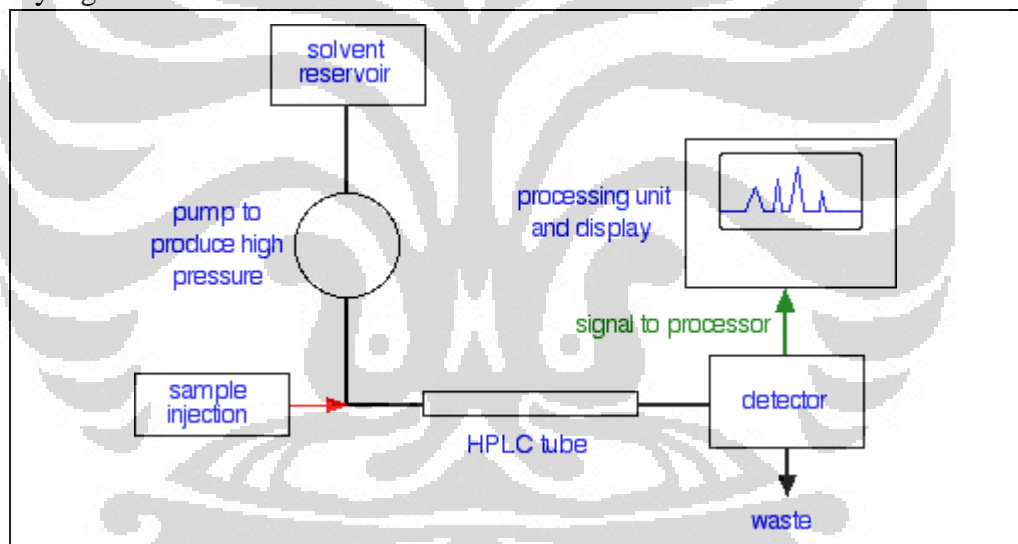
KCKT fasa terbalik merupakan kebalikan dari KCKT fasa normal. KCKT fasa terbalik menggunakan senyawa nonpolar sebagai fasa diam, dan senyawa relatif polar sebagai fasa gerak. Pada KCKT fasa terbalik, senyawa nonpolar akan terelusi fasa diam terlebih dahulu sehingga senyawa yang lebih polar akan muncul terlebih dahulu pada kromatogram dibandingkan dengan senyawa yang relatif nonpolar.

Pada saat sampel dimasukkan ke dalam sistem, terjadi interaksi yang kuat antara pelarut polar dan molekul polar dalam campuran yang melalui kolom. Interaksi yang terjadi tidak akan sekuat atraksi antara rantai-rantai hidrokarbon yang berlekatan pada fase diam dan molekul-molekul polar dalam larutan. Oleh karena itu, molekul-molekul polar akan berinteraksi kuat dengan fasa gerak daripada dengan fasa diam. Senyawa-senyawa non polar dalam campuran akan cenderung membentuk atraksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya gaya van der Waals. Senyawa-senyawa ini

juga akan kurang larut dalam fasa gerak. Oleh karena itu, senyawa-senyawa ini akan lebih dahulu tertahan dalam kolom dibandingkan senyawa polar.

Fasa diam yang digunakan adalah kolom C18 (oktildesil-siloksan *packing*), sedangkan fasa gerak menggunakan campuran asam perklorat pH 5 dengan metanol.

Detektor yang digunakan dalam analisis sampel bergantung pada batas deteksi sesuai dengan kebutuhan analisis. Detektor yang banyak dimanfaatkan secara luas adalah detektor spektrofotometri UV-Vis yang dapat memberikan fleksibilitas yang maksimal dalam mendeteksi berbagai macam zat terlarut dengan sensitivitas yang sangat baik. Sensitivitas bervariasi berdasarkan kecocokan antara pita absorbansi zat terlarut dan panjang gelombang detektor yang tersedia dan intensitas pita dan panjang jalan yang melewati sel detektor.



Gambar 2.11 Sistem Alat KCKT (38)

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan menggunakan pendekatan metode penelitian analisis studi prospektif yaitu dengan pemilihan faktor independen sebagai kategori sampel (dilihat dari aktivitas merokok dan yang tidak merokok) yang kemudian faktor dependennya (konsentrasi SPMA) akan dianalisis untuk mengetahui perbedaan dari tiap kategori tersebut.

3.2 Populasi dan Sampel

Sampel yang digunakan adalah dengan mengambil keseluruhan populasi yang bersedia menjadi subjek penelitian dari polisi yang bekerja di bagian gatur lalu lintas Metro Depok. Sedangkan kontrol diambil dari subyek yang memiliki kondisi tidak merokok dan memiliki umur dan lingkungan kerja yang tidak jauh jangkauannya dengan subyek sampel penelitian.

3.3 Pengumpulan Data dan Sampel

Pengumpulan data yang dilakukan dengan metode wawancara disertai dengan pengumpulan sampel.

Sebelum dilakukan sampling, subjek penelitian diberikan *informed consent*. Setelah itu peneliti akan menghimpun data dari masing-masing subjek penelitian mengenai identitas diri, dan faktor yang mempengaruhi variabel paparan benzena yaitu lama bekerja sebagai polisi lalu lintas, lama merokok, dan banyaknya rokok yang dikonsumsi setiap hari.

Sampel urin untuk identifikasi asam s-fenilmerkapturat dihimpun sebanyak 20 ml sampel urin dimasukkan ke dalam *ice box* -4°C .

3.5 Pengolahan Data

Pengolahan data untuk mengetahui faktor merokok terhadap konsentrasi SPMA dilakukan dengan melakukan uji perbedaan rata-rata konsentrasi SPMA terhadap aktivitas merokok yaitu kategori polisi lalu lintas yang merokok lebih dari 10 batang perhari, polisi lalu lintas yang merokok kurang dari 10 batang perhari, polisi lalu lintas yang tidak merokok, dan kontrol menggunakan metode Anova *single faktor*.

Faktor paparan lingkungan sebagai penentu konsentrasi SPMA dilakukan dengan melakukan uji statistik menggunakan Anova *single faktor* pada polisi lalu lintas yang tidak merokok terhadap kontrol.

Sedangkan, untuk mengetahui pengaruh konsentrasi SPMA terhadap banyaknya rokok yang dihisap perhari dapat diketahui dengan uji statistik Anova *single faktor* terhadap polisi lalu lintas yang merokok lebih dari 1 batang perhari dibandingkan dengan polisi lalu lintas yang merokok kurang dari 2 batang perhari.

Polisi yang merupakan perokok pasif dan berhenti merokok tidak disertakan dalam perhitungan dan pengukuran.

3.6 Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di lantai 4 gedung kimia FMIPA Universitas Indonesia

3.7 Bahan dan Peralatan

3.7.1 Bahan Kimia

Bahan kimia yang dibutuhkan adalah standar Asam s-fenilmerkapturat, akuabides, akuades, NaOH padat, etil asetat (p.a), metanol *HPLC grade*, asam perklorat (p.a), akuabides standar kreatinin, asam pikrat jenuh, HCl pekat, dan sampel urin.

3.7.2 Peralatan

Peralatan yang dibutuhkan diantaranya adalah neraca analitik, lemari pendingin, pipet mikro, pH meter, botol polietilen, syringe, sentrifuge, degasser, vorteks, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan detektor UV dan kolom C18 fasa terbalik (4 x 4 mm ID., ukuran partikel 5 μ m), Spektrofotometer *UV-Visible*, botol kaca coklat ukuran 10 ml, botol kaca coklat ukuran 100 ml, botol kaca bening ukuran 100 ml, baskom, pipet mikro 100 - 1000 μ L, sentrifugator 3000 rpm, timbangan, pH meter, pompa vakum.

Peralatan analisis yang digunakan adalah satu set peralatan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) detektor UV, dan Spektrofotometer UV-Visibel.

3.8 Cara Kerja

3.8.1 Analisis Kreatinin

Analisis kreatinin akan dilakukan dengan menggunakan metode *de Jaffe*. Analisis kreatinin dilakukan berdasarkan perubahan warna kompleks kreatinin-pikrat. Kadar kreatinin normal berdasarkan standar berdasarkan ketetapan WHO adalah 0,3-3,0 g/L.

3.8.1.1 Preparasi Larutan Standar Kreatinin

Melarutkan 0,3 mg kreatinin dengan HCl 0,1 M pada labu ukur 25 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 0,12; 0,48 ;1,2; 2,4; dan 4,8 g/L dan diukur dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 485 nm.

3.8.1.2 Analisis Kreatinin Sampel Urin

Jumlah kreatinin digunakan sebagai rasio jumlah μg asam s-fenil merkapturat per gram kreatinin. Sampel urin disentrifugasi terlebih dahulu untuk menghilangkan sedimennya. Disiapkan campuran 0,5 mL asam pikrat jenuh (asam pikrat padat dilarutkan dalam 30 mL akuades hingga jenuh) dan 1,00 mL NaOH 1 M dalam labu ukur 25 mL. Ke dalam campuran tersebut dimasukkan 0,1 mL sampel urin yang telah disentrifugasi, didiamkan 10 menit, kemudian diencerkan dengan HCl 0,1 N sampai tanda batas.

Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 485 nm. Perlakuan yang sama dilakukan terhadap blanko.

3.8.2 Analisis Asam s-fenilmerkapturat (SPMA)

Analisis SPMA dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan Prapin Tharnpoopasiam et. al (2004) (14). Verifikasi dilakukan untuk mendukung hasil penelitian disesuaikan dengan kondisi percobaan. Verifikasi meliputi uji keterulangan, Penentuan LOD dan LOQ, penentuan kondisi optimum, dan perolehan kembali.

3.8.2.1 Pembuatan Larutan Stok Standar SPMA

Larutan standar SPMA disiapkan dengan melarutkan 1 mg ke dalam 10 mL metanol. Larutan standar SPMA diencerkan dengan akuabides hingga 1000 ppm dan dapat disimpan pada suhu dibawah 0 °C.

3.8.2.2 Verifikasi Metode Analisis SPMA

Sebelum dilakukan analisis SPMA dalam urin, dilakukan optimisasi untuk mendapatkan kondisi optimum pemisahan disesuaikan dengan kondisi peralatan dan lingkungan sekitar meliputi penentuan Kondisi optimum, uji keterulangan, dan uji batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dan optimasi prosentase *recovery*.

1. Penentuan Kondisi optimum

Kondisi optimum didapatkan dengan mengoptimisasi retensi yaitu melakukan variasi perbandingan fasa gerak untuk memisahkan kromatogram SPMA dari matriks urin.

a. Pembuatan variasi fasa gerak

Variasi fasa gerak dilakukan dengan membuat 3 komposisi perbandingan metanol – 0,01N asam perklorat 0,0012 N (40%:60%; 35%:65%;30%:60%) kemudian ketiga fasa gerak tersebut di disaring melalui membran.

b. Pengukuran kondisi optimum

Pengukuran kondisi optimum dilakukan dengan membandingkan luas puncak kromatogram urin, dan standar ditambahkan ke dalam urin yang telah dipreparasi dengan memvariasikan 3 komposisi perbandingan eluen (perbandingan metanol:asam perklorat 0,0012 N = 40:60, 35:65, 30:70).

2. Uji batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ)

Nilai LOD dan LOQ dihitung secara statistik dari regresi linier dan kurva kalibrasi standar paling terkecil hingga mendekati tidak terdeteksi.

3. Uji Keterulangan

Larutan standar SPMA dengan 3 variasi konsentrasi disuntikkan ke dalam kolom KCKT sebanyak 6 kali untuk masing-masing konsentrasi.

4. Uji Perolehan Kembali

Larutan Standar SPMA, urin, dan standar SPMA ditambahkan dalam urin dipreparasi dan diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam kolom dan dielusi dengan perbandingan eluen optimum. Selisih puncak kromatogram antara urin dengan standar SPMA yang ditambahkan dalam urin yang sama dibandingkan dengan luas puncak standar SPMA dengan konsentrasi sama yang terukur untuk mendapatkan prosentase perolehan kembali.

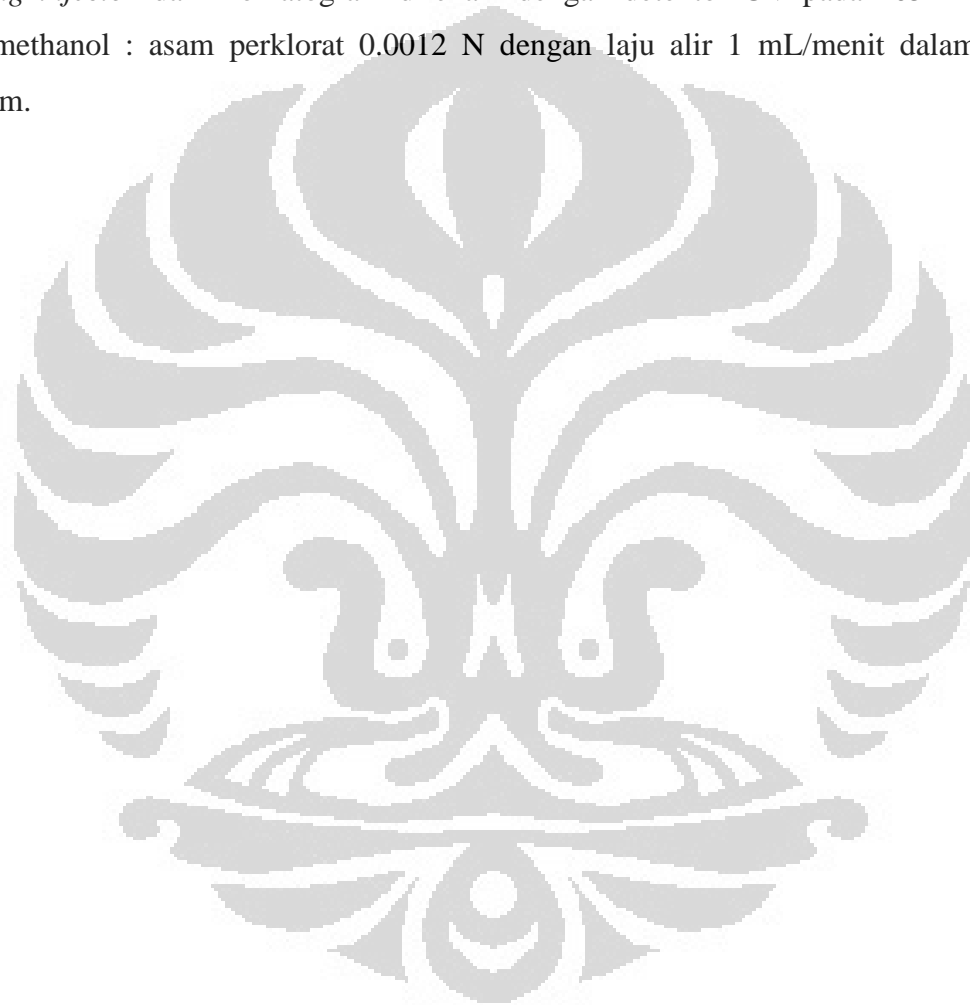
3.8.2.3 Preparasi dan Pengukuran Larutan Standar SPMA

Kalibrasi standar dilakukan dengan memvariasikan sebanyak 5 variasi konsentrasi standar SPMA (100;200;400;600;800;1000 mg/L dan 1;2;4;6;8;10 g/L) yang selanjutnya diukur dengan KCKT pada 205 nm.

3.8.2.4 Analisis SPMA Sampel Urin

Analisis SPMA dilakukan dengan metode LLE untuk memisahkan SPMA dari matriks urin. 2 mL sampel urin disentrifugasi, kemudian aliquotnya ditambahkan dengan 0,25 mL akuades, 0,1 ml Asam Sulfat 17,8 N ditunggu 10 menit, kemudian ditambahkan 0,1 mL KOH 9,8 N hingga diperkirakan mencapai pH 1. Kemudian sampel dengan 2,5 mL

etil asetat p.a, dikocok dengan vorteks 3 menit, disentrifugasi, dan ekstrak dipisahkan ke tabung lain. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali kemudian dikeringkan dengan cara diuapkan pada suhu dibawah atau sama dengan 60⁰C. Sampel dilarutkan dengan eluen dan dilakukan pengukuran dengan KCKT (MCI GEL C18 column (150 × 4,6 mm, 5 µm) dari *sampling injector* dan kromatogram direkam dengan detektor UV pada 205 nm dengan eluen methanol : asam perklorat 0.0012 N dengan laju alir 1 mL/menit dalam kondisi optimum.



BAB 4

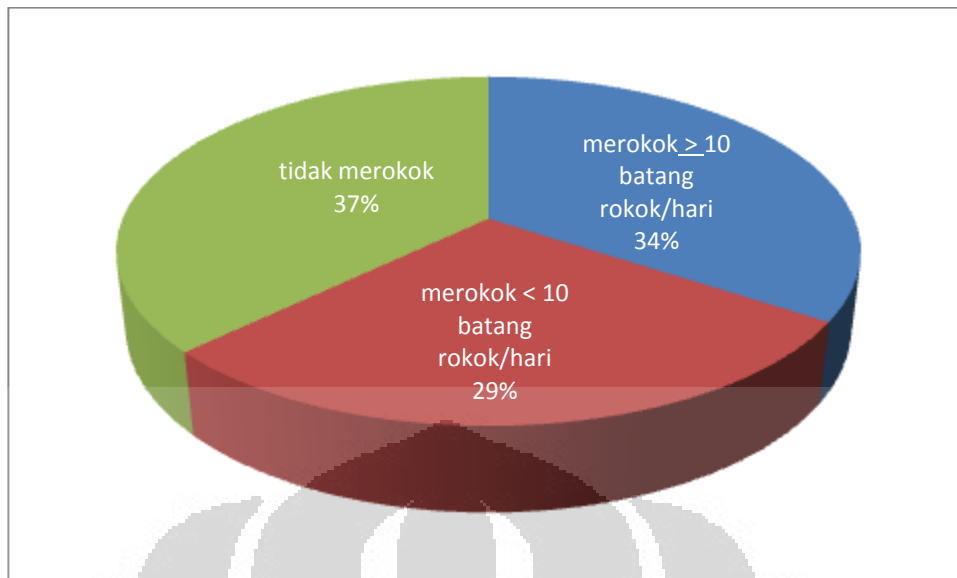
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Deskripsi Sampel

Kajian risiko paparan benzena pada polisi lalu lintas perlu dilakukan untuk mengetahui dampak lingkungan dan faktor lain yang mempengaruhi tingginya paparan benzena akibat tingginya frekuensi kerja polisi lalu lintas di jalan raya. Faktor yang mempengaruhi paparan benzena pada polisi lalu lintas adalah rokok, selain dari paparan emisi kendaraan bermotor, sehingga perlu dilakukan uji perbandingan antara paparan benzena yang berasal dari rokok dengan emisi kendaraan bermotor yang juga dibandingkan dengan kontrol, yaitu subyek yang bekerja di daerah yang sama dengan sampel, memiliki jangkauan umur tidak jauh berbeda dari sampel, tidak merokok, dan tidak bekerja sebagai polisi lalu lintas ataupun pekerjaan yang banyak menghabiskan waktu di jalan raya seperti supir, kernet, pengamen, dan sejenisnya.

Polisi lalu lintas yang menjadi subyek penelitian adalah polisi yang tergabung dalam gatur lalu lintas di Polres Metro Depok dengan wilayah kerja di sepanjang jalan Margonda. Populasi yang bekerja di gatur lalu lintas ada 54 orang. Dari seluruh populasi tersebut yang bersedia untuk menjadi subyek penelitian sebanyak 46 orang dengan rata-rata umur $39,5 \pm 8,5$ tahun. Dari keseluruhan sampel, sebanyak 54% perokok, 30% tidak merokok, dan 16% berhenti merokok. Representasi data juga akan dilakukan terhadap perokok yang merokok lebih dari 10 batang rokok perhari, kurang dari 10 batang perhari, dan polisi yang tidak merokok untuk mengetahui pengaruh rokok dan emisi kendaraan bermotor terhadap paparan benzena polisi lalu lintas. Keseluruhan konsentrasi SPMA dalam sampel akan dibandingkan dengan kontrol.



Gambar 4.1 Diagram Prosentase Aktivitas Merokok Polisi Lalu Lintas Wilayah Depok

4.1.2 Pemilihan dan Pengkategorian Sampel

Dari keseluruhan sampling yang dilakukan sebanyak 46 sampel urin polisi lalu lintas, didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4.1 Jumlah sampel berdasarkan kategori perokok dan non perokok

Kategori	Jumlah Sampel
PL Perokok	19
PL Non Perokok	8

Perokok dikategorikan menjadi dua:

Tabel 4.2 Jumlah sampel berdasarkan jumlah rokok yang dikonsumsi perhari

Kategori Perokok	Jumlah Sampel
PL Perokok ≥ 10 batang rokok/hari	11
PL Perokok < 10 batang rokok/hari	8

Dari keseluruhan jumlah sampel terdapat beberapa sampel yang tidak disertakan dalam pengukuran dengan pertimbangan:

1. Memiliki penyakit ginjal yaitu sampel PL 29.
2. Informasi yang diberikan pada kuisioner tidak lengkap sehingga mempersulit pengkategorian sampel yaitu pada sampel PL12, PL 24, dan PL 31.
3. Sampel urin bagi polisi lalu lintas yang merupakan perokok pasif dan berhenti merokok tidak disertakan dalam pengukuran yaitu sampel PL 2, PL 10, PL 11, PL 15, PL 17, PL 18, PL 25, PL 32, PL 36, PL 38, PL 28.

4.1.3 Verifikasi Metode Analisis SPMA

4.1.3.1 Kondisi Optimum Analisis

Pengukuran kondisi optimum untuk SPMA dalam urin adalah:

Kolom	: LichroCART® RP-18, 5 μ m, panjang 250 mm, diameter dalam (ID) 4,6 mm (MERCK)
Pompa	: Shimadzu LC-6A
Detektor	: UV-Visibel (SPD 20-A)
Panjang Gelombang	: 205 nm
Fasa gerak	: Metanol-asam perklorat 0,0012 N (35:65)
Volume Injeksi	: 20 μ L
Waktu retensi	: \pm 18 menit

4.1.3.2 Kurva Kalibrasi (Linearitas)

a. Kurva kalibrasi 1-10 mg/L

Kurva kalibrasi SPMA : 1, 2, 4, 6, 8, 10 mg/L

Persamaan Garis : $66,61x + 1563$

Koefisien korelasi (r^2) : 0,99

b. Kurva kalibrasi 100-1000 μ g/L

Kurva kalibrasi SPMA : 100, 200, 400, 600, 800, 1000 μ g/L

Persamaan garis : $57,09x - 5181,6$

Koefisien korelasi (r^2) : 0,98

Data selengkapnya dapat dilihat di Lampiran 1.

4.1.3.3 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

Batas deteksi SPMA pada penelitian kali ini adalah 13.74 $\mu\text{g/L}$, sedangkan Batas kuantifikasinya adalah 45.80 $\mu\text{g/L}$. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.1.3.4 Uji Keterulangan

Hasil uji keterulangan pada tiga konsentrasi SPMA menghasilkan koefisien variasi dibawah 2%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.1.3.5 Perolehan Kembali

Perolehan kembali dengan 4 kali ekstraksi adalah 95%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.1.4 Analisis SPMA dalam Urin

Hasil analisis SPMA pada polisi lalu lintas wilayah Depok menunjukkan kromatogram di atas nilai limit deteksi yaitu 13,74 $\mu\text{g/L}$ dengan rerata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol yaitu konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas adalah $185,0 \pm 188,41 \mu\text{g/g}$ kreatinin ($n=26$) dan konsentrasi SPMA pada kontrol yaitu $14,3 \pm 19,61 \mu\text{g/g}$ kreatinin ($n=10$). Sedangkan untuk kategori kriteria polisi lalu lintas yang merokok $235,91 \pm 203,92 \mu\text{g/g}$ kreatinin ($n=11$) dan polisi tidak merokok lebih rendah yaitu $70,44 \pm 64,21 \mu\text{g/g}$ kreatinin ($n=8$).

Deskripsi hasil analisis SPMA pada urin (data selengkapnya ada pada Lampiran 3).

Tabel 4.3 Tabel Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas yang Merokok Lebih dari 10 Batang Rokok/hari

Sampel	Area	Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/L}$)	g/L Kreatinin	$\mu\text{g SPMA/g kreatinin}$
PL1	34261	345.44	3.21	107.62
PL4	25268	533.4	2.25	237.07
PL7	25566	538.6	2.77	194.44
PL9	73451	868.02	3.03	286.47
PL21	22945	246.33	4.21	58.51
PL22	18218	410	0.57	719.30
PL35	5037	179	1.43	125.18
PL37	25808	271.41	0.36	753.92
PL39	22430	241.82	3.15	76.77
PL40	121942	798	3.47	228.53
PL43	2069	10.09	4.5	2.24
PL44	7187	216.7	1.71	126.72
Rata-rata \pm standar deviasi				160,15 \pm 79,14

Tabel 4.4 Tabel Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas yang Merokok Kurang dari 10 Batang Rokok/Hari.

Sampel	Area	Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/L}$)	g/L Kreatinin	$\mu\text{g SPMA/g kreatinin}$
PL3	80705	488.46	1.64	297.84
PL5	7954	115.04	0.89	129.25
PL6	14320	170.79	1.65	103.51
PL19	14925	176.10	1.36	129.48
PL20	32699	331.76	5.04	65.82
PL26	30028	308.37	3.13	98.52
PL30	82115	499.05	2.57	194.18
PL34	60100	333.8	3.42	97.602
Rata-rata \pm standar deviasi				153,48 \pm 74,1

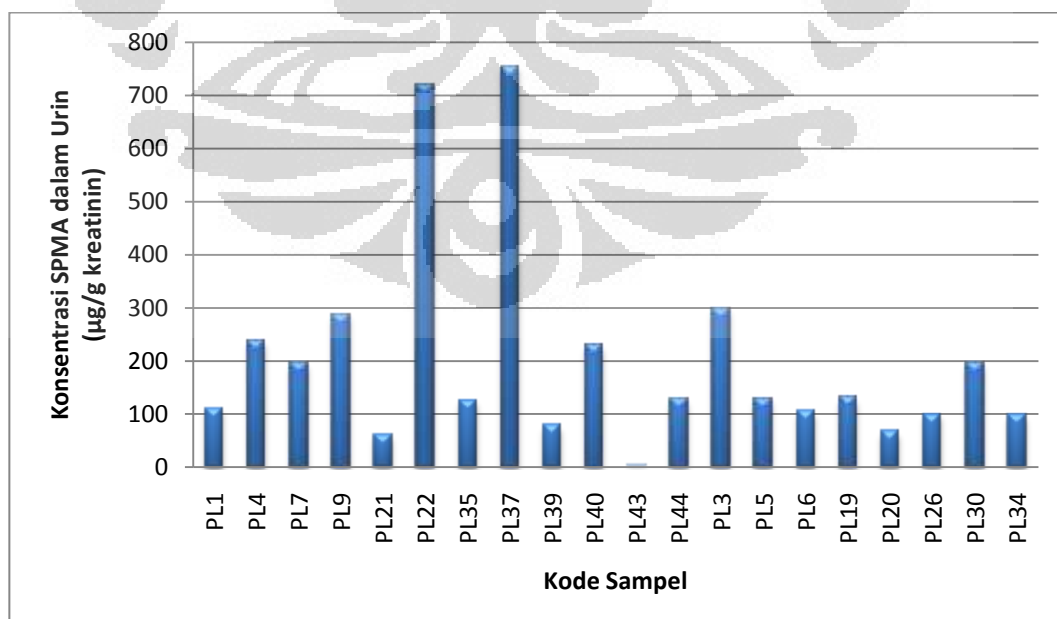
Tabel 4.5 Tabel Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas yang Tidak Merokok

Sampel	Area	Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/L}$)	g/LKreatinin	$\mu\text{g SPMA/g kreatinin}$
PL8	3288	74.18	0.8	92.73
PL13	4891	176.43	2.74	64.39
PL14	3039	71.99	4.28	16.82
PL16	73696	437.90	2.26	193.76
PL33	5032	89.45	2.47	36.21
PL42	2172	42.24	2.72	15.53
PL45	11064	284.56	2.24	127.04
PL46	3230	73.67	4.33	17.014
Rata-rata \pm standar deviasi				70,43 \pm 64,21

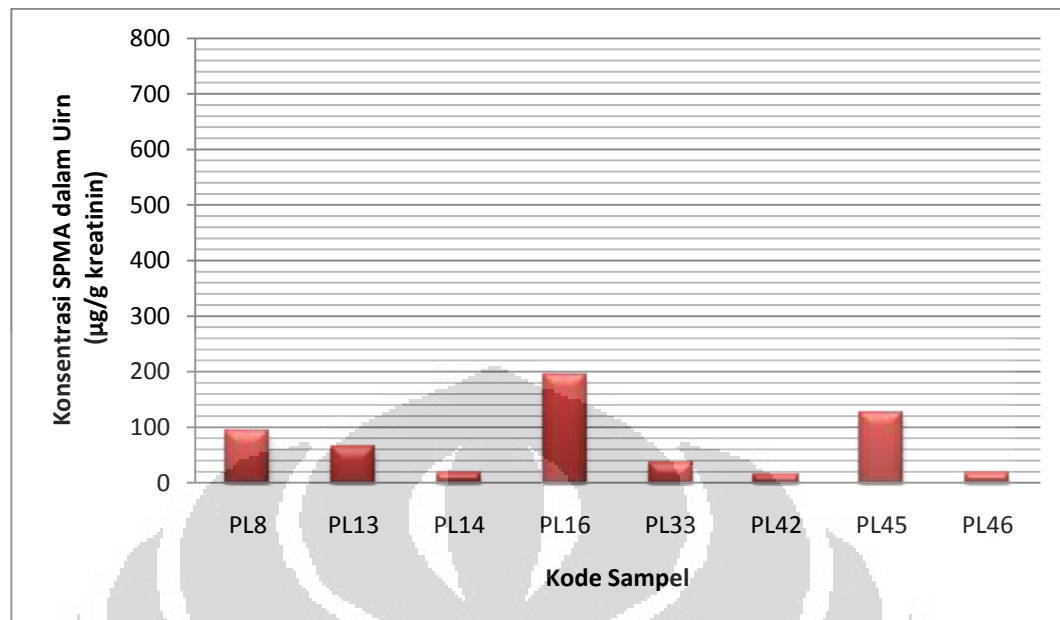
Tabel 4.6 Tabel Konsentrasi SPMA pada Kontrol

Sampel	Area	Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/L}$)	g Kreatinin	$\mu\text{g SPMA/g}$ kreatinin
C1	tt	212.09	4.6	0
C2	5112	90.15	4.05	22.26
C3	8083	116.17	3.03	38.34
C4	tt	293.62	2.34	0
C5	tt	81.30	2.75	0
C6	tt	72.92	3.25	0
C7	2364	22.88	0.46	49.74
C8	4148	81.71	2.50	32.68
C9	tt	85.80	4.24	0
C10	tt	23.53	2.26	0
Rata-rata \pm standar deviasi				14,30 \pm 19,61

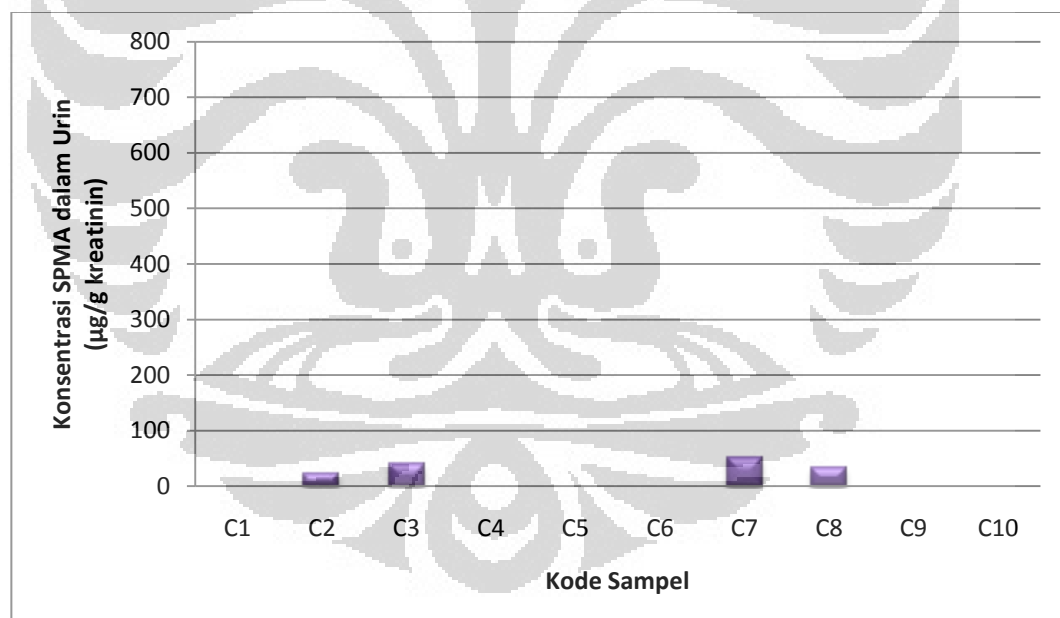
Ket : tt = tidak terdeteksi



Gambar 4.2 Grafik konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang merokok



Gambar 4.3 Grafik Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas yang Tidak Merokok



Gambar 4.4 Grafik Konsentrasi SPMA pada Kontrol

4.2 Pembahasan

4.2.1 Analisis SPMA dengan instrumentasi KCKT-UV.

Optimalisasi analisis SPMA dilakukan dengan pengayaan pre-PMA menjadi SPMA dengan penambahan asam sebelum analisis serta mengurangi

matriks dalam sampel yang dapat menghalangi kromatogram profil SPMA pada KCKT-UV.

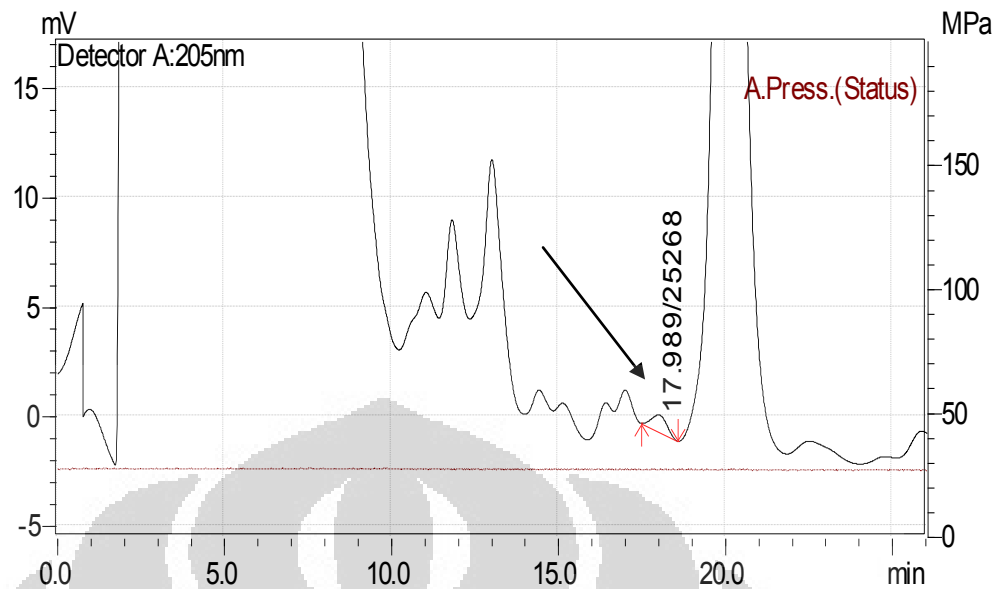
Metode yang digunakan untuk mengurangi pengotor dalam sampel adalah dengan menggunakan ekstraksi cair cair yaitu dengan menggunakan etil asetat sebagai fasa organik karena etil asetat memiliki volatilitas yang tinggi dibandingkan dengan sampel sehingga dapat dengan mudah menguap meninggalkan sampel menjadi residunya(48).

Verifikasi metode pada instrumentasi KCKT-UV adalah dengan penentuan kondisi optimum analisis SPMA, pembuatan kurva kalibrasi, penentuan limit deteksi (LOD), penentuan limit kuantifikasi (LOQ), kurva kalibrasi, keterulangan, dan uji perolehan kembali.

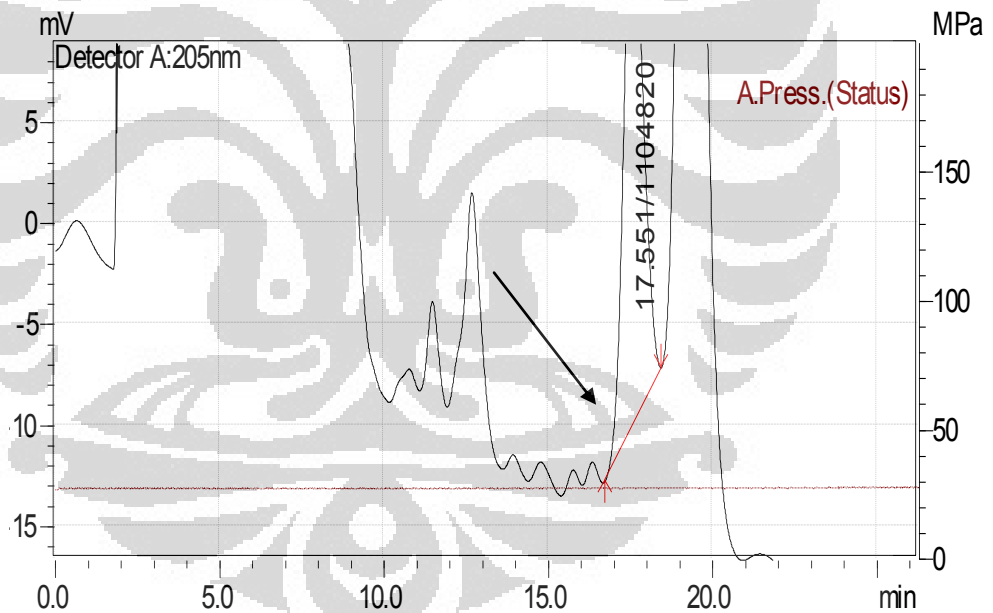
Kondisi optimum analisis SPMA didasarkan pada pemisahan kurva kromatogram SPMA dengan kurva kromatogram pengotor lainnya disertai pula dengan retensi keluarnya kurva kromatogram SPMA agar tidak terlalu rendah sehingga dapat tertutupi oleh kromatogram matriks, ataupun terlalu tinggi yang dapat membuat pengukuran menjadi tidak efisien.

Perbandingan metanol : asam perklorat 0.0012 N sebesar 35:65 menjadi kondisi optimum terpilih karena dari 3 perbandingan eluen, kondisi tersebut paling efisien dan dapat menunjukkan kromatogram SPMA yang cukup nyata walaupun pemisahan dengan matriks lainnya masih belum sempurna. Perbandingan metanol : asam perklorat 0.0012 N 30:70 tidak menjadi perbandingan eluen terpilih karena selain membutuhkan waktu retensi yang lebih tinggi, pemisahan juga tidak terlalu signifikan lebih baik dibandingkan dengan perbandingan metanol : asam perklorat 0.0012 N = 35:65. Digunakannya 2 kurva kalibrasi dikarenakan adanya beda daerah kalibrasi antara skala $\mu\text{g/L}$ dengan mg/L .

Kondisi optimum dapat diketahui dengan menbandingkan antara sampel dengan sampel yang ditambahkan dengan standar baku, sehingga dapat diketahui luas puncak kromatogram SPMA yang akan dianalisis.



Gambar 4.5 Kromatogram KCKT Analisis Sampel tanpa Penambahan Standar Baku SPMA



Gambar 4.6 Kromatogram KCKT Analisis Sampel dengan Penambahan Standar Baku SPMA 20 mg/L

Penentuan konsentrasi sampel dilakukan pada 3 variasi kurva kalibrasi. 10-100 ppb, 100-1000 ppb, dan 1-10 ppm. Hasil kurva kalibrasi yang didapatkan dari ketiga kurva kalibrasi tersebut menunjukkan linearitas yang baik (kurva kalibrasi dapat dilihat pada Lampiran 1). Hasil yang baik juga ditunjukkan pada

prosentase perolehan kembali, penentuan limit deteksi, limit kuantifikasi, serta uji keterulangan.

Terdeteksinya SPMA dalam urin merupakan indikator paparan benzena ke dalam tubuh. Analisis SPMA dalam urin dinyatakan dalam $\mu\text{g/g}$ kreatinin. Untuk pengambilan spot sampel urin, kreatinin digunakan sebagai rasio konsentrasi SPMA, karena pada individu yang sehat, kreatinin diproduksi secara konstan setiap harinya, sehingga tidak perlu pengumpulan sampel 24 jam(45, 46).

Analisis SPMA menggunakan instrumentasi KCKT-UV RP 18 dengan fasa gerak metanol:asam perklorat 0,0012N =35:65 memperlihatkan waktu retensi ± 18 menit. asam perklorat pH 5 digunakan sebagai zat yang ditambahkan pada fasa gerak sebab asam perklorat baik untuk pemisahan senyawa yang bersifat asam karena dapat menekan disosiasi komponen analit dalam sampel. Asam perklorat juga dapat meningkatkan pemisahan antara komponen basa dan komponen asam karena sebagai aditif pada eluen, asam perklorat merupakan "*chaotropic counteranion*" sebab selain dapat mengganggu ikatan hidrogen pada eluen air karena interaksi dengan asam perklorat, hidrofobisitas pada analit basa menjadi lebih tinggi karena terprotonasinya eluen basa. Kolom C18 digunakan sebagai fasa stasioner karena cocok untuk pemisahan senyawa-senyawa yang bersifat polar(47).

Pada pengukuran kontrol, konsentrasi SPMA yang tidak terdeteksi pada sampel kemungkinan dikarenakan konsentrasi SPMA yang sangat kecil sehingga tidak dapat terdeteksi oleh SPMA. Kecilnya konsentrasi SPMA dikarenakan paparan benzena yang rendah, disertai dengan hanya 0,11 % SPMA yang diekskresikan dari benzena yang terpapar kedalam tubuh(10).

Dari hasil pengukuran SPMA, sampel perokok yaitu PL22, dan PL37 menunjukkan konsentrasi lebih dari dua kali lipat konsentrasi SPMA yang lain dikarenakan rendahnya konsentrasi kreatinin sebagai rasio pengukuran SPMA. Rendahnya konsentrasi SPMA dalam urin dikarenakan adanya penyakit otot, atau kurangnya asupan protein(51).

Pada pengukuran kreatinin, beberapa sampel diketahui melebihi nilai batas konsentrasi kreatinin (0,3-3 g/ L) dalam sampel untuk individu normal (data konsentrasi kreatinin dapat dilihat di Lampiran 3). Hal ini dapat terjadi karena

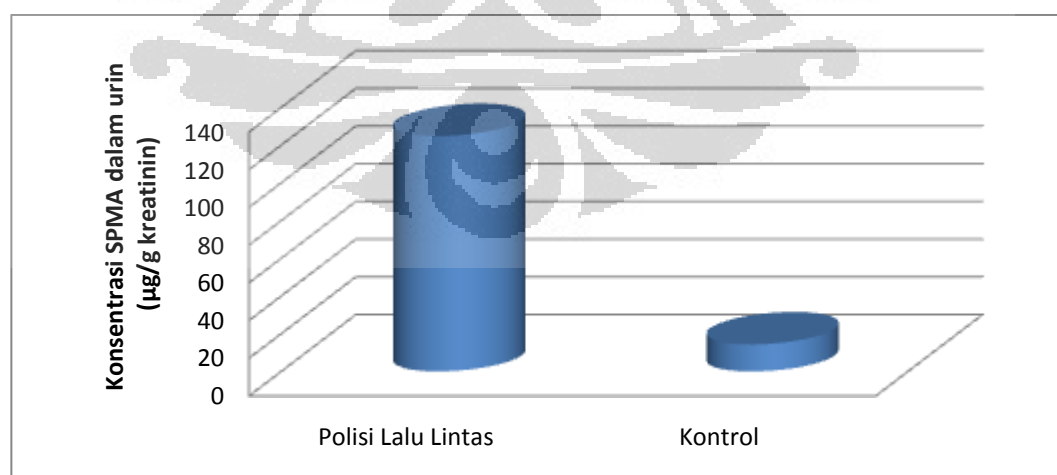
kemungkinan tingginya asupan protein dan, konsumsi daging yang tinggi. Menurunnya aliran darah ke ginjal juga dapat berpengaruh pada konsentrasi kreatinin dalam urin, namun banyak kasus yang terjadi, penyebab utama tingginya kreatinin dalam urin disebabkan oleh kelainan fungsi ginjal (51).

4.2.2 Analisis Data Konsentrasi SPMA dalam urin

4.2.2.1 Risiko Paparan Benzena pada Polisi Lalu lintas

Risiko paparan benzena lebih besar pada polisi lalu lintas dilakukan dengan melakukan uji perbandingan rata-rata dengan metode statistik Anova *single factor* yang seluruhnya dapat dilihat pada Lampiran 4. Keseluruhan besar konsentrasi SPMA polisi lalu lintas yang disertakan pada pengolahan data sebesar 25 sampel dibandingkan dengan 10 sampel kontrol. Sampel kontrol merupakan subjek yang memiliki kesamaan gender, rata-rata tingkat usia, dan lingkungan kerja yang tidak jauh dari lingkungan kerja polisi lalu lintas yang menjadi subjek penelitian namun tidak bekerja di jalan raya. Rata-rata konsentrasi SPMA pada urin polisi lalu lintas adalah $124,84 \pm 80,11$ $\mu\text{g/g}$ kreatinin dan konsentrasi SPMA pada kontrol yaitu $14,3 \pm 19,61$ $\mu\text{g/g}$ kreatinin.

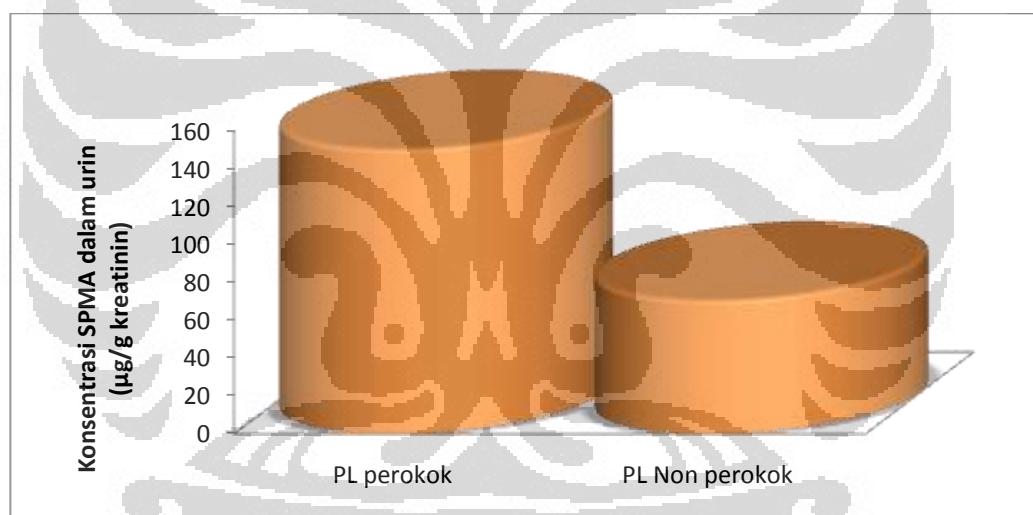
Polisi lalu lintas memiliki risiko paparan benzena lebih tinggi dibandingkan kontrol dilihat dari lebih tingginya rata-rata konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas dan dari hasil uji statistik Anova *single factor* didapatkan F hitung $> F_{crit}$ dengan nilai F hitung 18,29 dibandingkan dengan F_{crit} 4,17.



Gambar 4.7 Grafik Perbandingan Rata-rata Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/g}$ kreatinin) pada Polisi Lalu lintas dengan Kontrol

4.2.2.2 Risiko Paparan Benzena dari Rokok

Risiko paparan benzena dari rokok terhadap polisi lalu lintas dilakukan dengan melakukan uji beda rata-rata konsentrasi SPMA antara polisi lalu lintas yang merokok dengan yang tidak merokok. Rata-rata konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang merokok ($n=17$) adalah $150,44 \pm 75,14$ $\mu\text{g/g}$ kreatinin dan rata-rata konsentrasi SPMA polisi lalu lintas yang tidak merokok ($n=8$) adalah $70,44 \pm 64,21$ $\mu\text{g/g}$ kreatinin, dapat dilihat bahwa rata-rata konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang merokok lebih tinggi dibandingkan dengan polisi lalu lintas yang tidak merokok. Dari hasil uji statistik (Lampiran 4) didapatkan $F_{hitung} > F_{crit}$ pada $\alpha=0.05$ dengan F hitung sebesar 6,06 dengan F_{crit} sebesar 4,35 yang menunjukkan terdapat perbedaan konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang merokok dibandingkan dengan polisi lalu lintas yang tidak merokok.



Gambar 4.8 Grafik Perbandingan Rata-rata Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/g}$ kreatinin) pada Polisi Lalu Lintas yang Merokok (PL perokok) dengan Rata-rata Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas yang Tidak Merokok (PL Nonperokok).

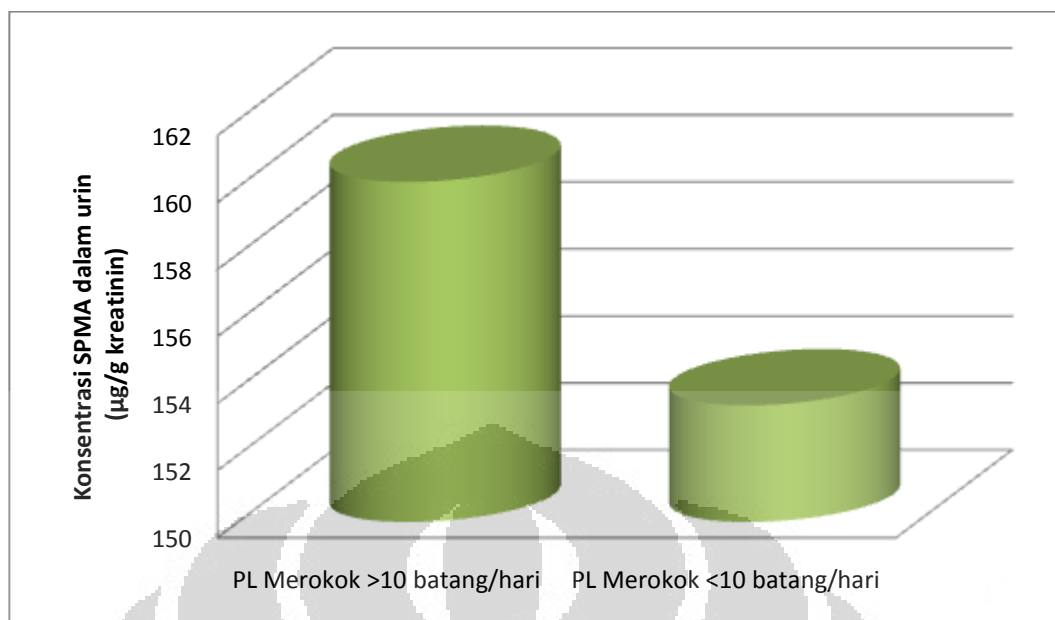
4.2.2.3 Risiko Paparan Benzena Dilihat dari Konsumsi Rokok Perhari

Untuk mengetahui adanya perbedaan konsentrasi SPMA dilihat dari konsumsi rokok perhari, dilakukan uji perbandingan rata-rata konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang merokok lebih atau sama dengan 10 batang rokok perhari dengan polisi lalu lintas yang merokok kurang dari 10 batang perhari.

Dari 9 polisi lalu lintas yang merokok ≥ 10 batang rokok/hari dengan rata-rata konsentrasi SPMA $160,15 \pm 79,14 \mu\text{g/g}$ kreatinin dan 8 polisi lalu lintas yang merokok < 10 batang rokok/hari dengan rata-rata $153,48 \pm 74,1 \mu\text{g/g}$ kreatinin, hasil uji statistik Anova *single factor* menunjukkan $F_{\text{hitung}} < F_{\text{crit}}$ dengan F_{hitung} 0,032 dibawah nilai F_{crit} 3,49. Dari uji tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan rata-rata konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang merokok lebih atau sama dengan 10 batang rokok perhari dengan polisi lalu lintas yang merokok kurang dari 10 batang perhari. Hal ini dapat terjadi karena selain banyaknya variabel eksternal yang dapat mempengaruhi konsentrasi SPMA dalam urin seperti emisi kendaraan bermotor, konsumsi makanan, lama merokok, dan konsumsi obat, dan lain-lain kemungkinan besar konsentrasi SPMA dipengaruhi oleh metabolisme benzena yang bervariasi pada tiap individu(13).

Terjadinya kompetitif inhibisi metabolisme oleh senyawa-senyawa lain yang berasal dari kandungan rokok yang terhirup selain benzena dapat menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kandungan SPMA dalam urin seperti yang telah dinyatakan oleh Mendinsky et. al, 1996 bahwa metabolisme benzena juga dapat mengalami inhibisi oleh senyawa lain(49).

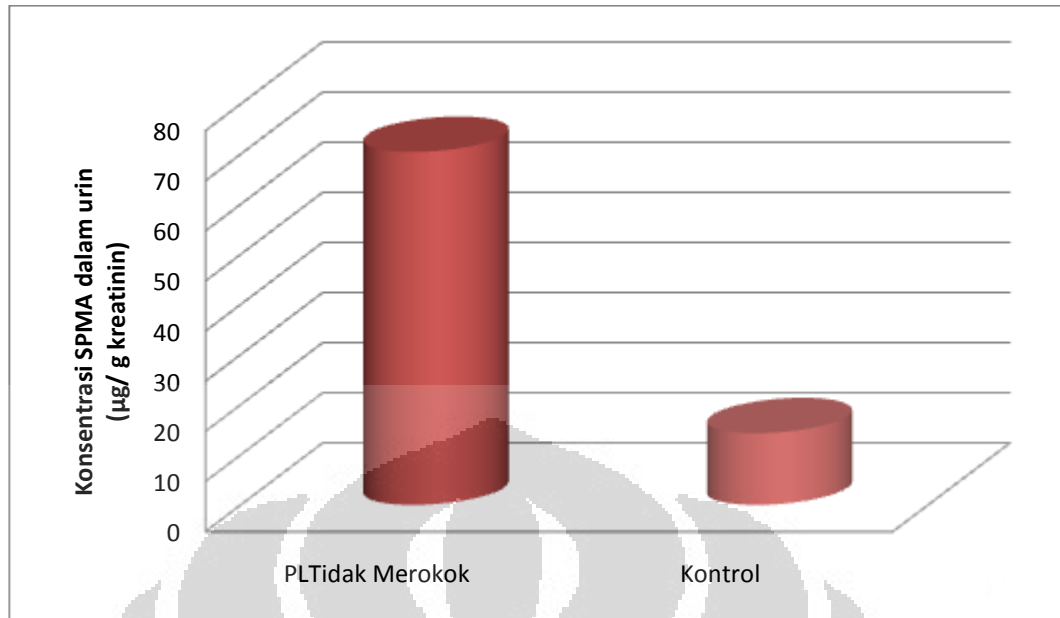
Selain itu kemungkinan bervariasinya kandungan benzena serta senyawa lain sebagai inhibitor metabolisme benzena dalam rokok, konsumsi rokok yang bervariasi setiap hari pada tiap individu disertai variasi lama merokok sehingga perbedaan konsentrasi SPMA dengan melihat jumlah konsumsi rokok perhari tidak terlihat berbeda secara signifikan.



Gambar 4.9 Grafik Perbandingan Rata-rata Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas yang Merokok Lebih Dari atau Sama dengan 10 Batang Rokok Perhari dengan Polisi Lalu Lintas yang Merokok Kurang dari 10 Batang Rokok Perhari

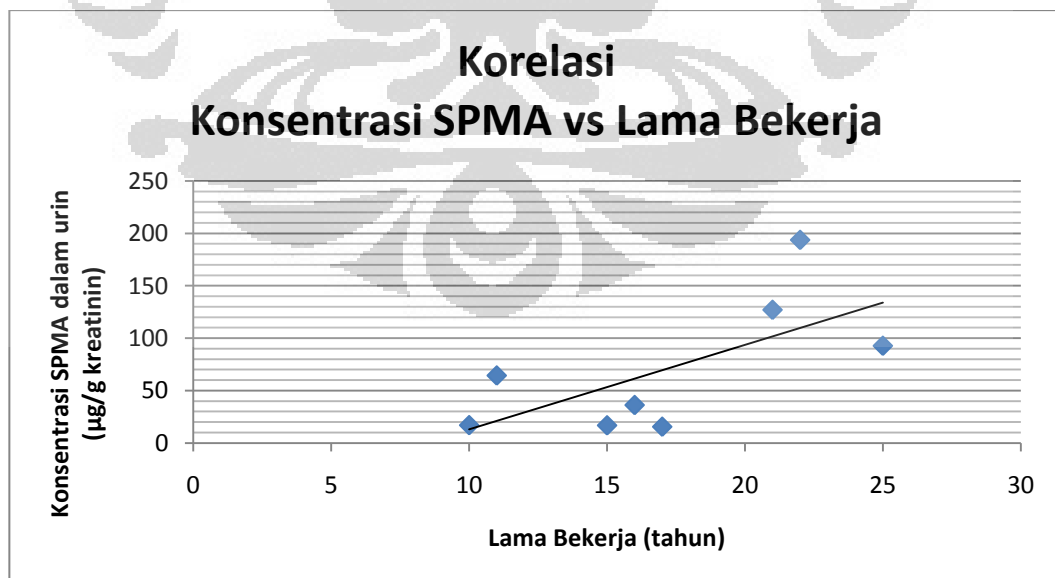
4.2.2.4 Risiko Paparan Benzena dari Emisi Kendaraan Bermotor

Risiko adanya paparan benzena dari emisi kendaraan bermotor tanpa pengaruh paparan benzena dari rokok dapat dilihat dari uji perbandingan konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang tidak merokok dibandingkan dengan kontrol. Terdapat 8 polisi lalu lintas bukan perokok dengan rata-rata konsentrasi SPMA $70,43 \pm 64,21$ µg/g kreatinin dan 10 kontrol dengan rerata konsentrasi SPMA sebesar $14,30 \pm 19,61$ µg/g kreatinin. Hasil uji statistik Anova *single factor* memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata konsentrasi SPMA pada urin polisi lalu lintas yang tidak merokok dengan kontrol menunjukkan $F_{hitung} > F_{crit}$ yaitu F_{hitung} 6,93 dan nilai F_{crit} 4,49. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan antara konsentrasi SPMA pada polisi lalu lintas yang tidak merokok dengan kontrol.



Gambar 4.10 Grafik Perbandingan Rata-rata Konsentrasi SPMA pada Polisi Lalu Lintas yang Tidak Merokok dengan Kontrol

Uji korelasi paparan benzena dilihat dari lama bekerja menurut Colton (52) menunjukkan nilai korelasi yang kuat ($r=0,66$) antara besar konsentrasi SPMA dengan lama bekerja. Hipotesis Uji T dengan derajat signifikan $\alpha = 0.05$, $p= 1,943$ ($n=8$) hipotesis menunjukkan $p < 0.005$ dengan $p= 5,31$ bahwa ada hubungan antara konsentrasi SPMA dengan lama bekerja.



Gambar 4.11 Grafik Korelasi Konsentrasi SPMA vs Lama Bekerja

Dari keseluruhan hasil uji statistik dapat disimpulkan bahwa paparan benzena pada polisi lalu lintas sangat signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Paparan terus-menerus dari kandungan alami serta hasil pembakaran yang tidak sempurna benzena pada rokok dan emisi kendaraan bermotor menjadi penyebab tingginya paparan benzena yang diindikasikan oleh biomarker SPMA dalam urin. Perbedaan konsentrasi SPMA pada perokok dibandingkan nonperokok pada penelitian kali ini mendukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Tharnpoopasiam 2004(14).

Polisi lalu lintas di wilayah Depok bekerja setiap hari dengan durasi kerja lebih dari 8 jam kerja perhari serta lama bekerja rata-rata melebihi 8 tahun sebagai polisi lalu lintas, merupakan faktor utama risiko terjadinya efek negatif dari paparan benzena terhadap kesehatan. Untuk mengurangi risiko terhadap bahaya benzena, paparan benzena dapat dikurangi dengan diberlakukannya manajemen pembagian shift kerja yang baik, pemakaian masker setiap bekerja di jalan raya, serta mengurangi atau berhenti mengkonsumsi rokok.

Pada perkembangannya, untuk mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi paparan benzena, studi deteksi metabolit SPMA dapat disertai dengan analisis multivariat antara faktor independen lain yang mempengaruhi paparan benzena, yang diantaranya adalah pengaruh lama bekerja, lama merokok, frekuensi penggunaan masker, dan lain-lain. Korelasi paparan benzena terhadap dampak yang mempengaruhi kesehatan akibat paparan benzena perlu dilakukan sebagai studi lanjutan pengembangan *human biomonitoring* metode analisis SPMA dalam urin.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

Rata-rata konsentrasi SPMA dalam urin pada polisi lalu lintas yaitu (n=25) $124,84 \pm 80,11 \mu\text{g/g}$ kreatinin dibandingkan dengan kontrol (n=10) $14,30 \pm 19,61 \mu\text{g/g}$ kreatinin serta dilihat dari uji banding rata-rata dengan metode Anova *single factor* dapat disimpulkan bahwa polisi lalu lintas positif lebih tinggi berisiko terpapar benzena dibandingkan dengan kontrol.

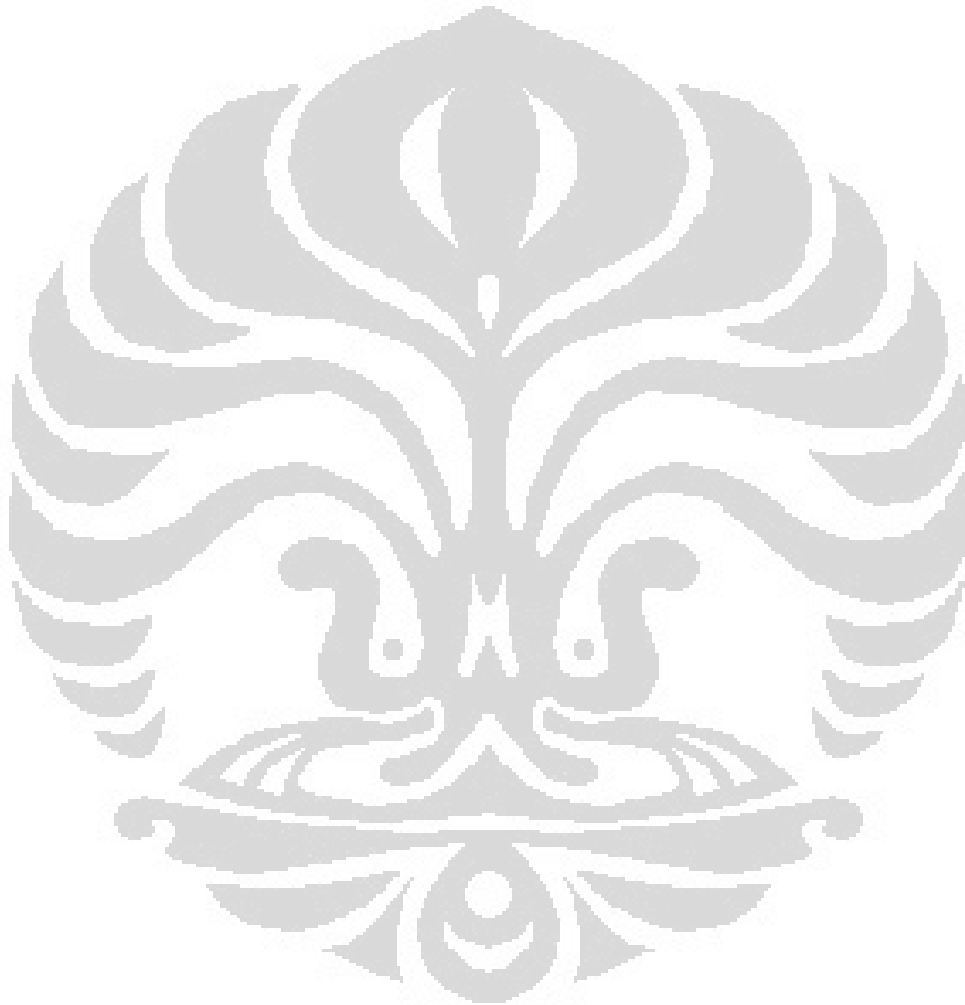
Dengan metode analisis statistika yang sama dan dengan melihat besar rata-rata konsentrasi SPMA dalam urin, risiko paparan benzena dari faktor merokok dapat disimpulkan dari rata-rata polisi lalu lintas yang merokok (n=17) $150,44 \pm 75,14 \mu\text{g/g}$ kreatinin dengan polisi lalu lintas yang tidak merokok (n=8) $70,44 \pm 64,21 \mu\text{g/g}$ kreatinin menunjukkan bahwa polisi lalu lintas yang merokok signifikan terpapar benzena lebih tinggi dibandingkan polisi lalu lintas yang tidak merokok.

Risiko paparan benzena dari emisi kendaraan bermotor dapat dilihat dari perbandingan rata-rata polisi lalu lintas yang tidak merokok (n=8) $70,44 \pm 64,21 \mu\text{g/g}$ kreatinin dengan kontrol (n=10) $14,30 \pm 19,61 \mu\text{g/g}$ kreatinin, menunjukkan polisi lalu lintas yang tidak merokok berisiko lebih tinggi terpapar benzena dibandingkan dengan kontrol. Hasil uji korelasi menunjukkan hubungan yang kuat antara konsentrasi SPMA dengan lama bekerja.

Pengkategorian banyaknya rokok yang dihisap perhari tidak memberikan perbedaan tinggi konsentrasi SPMA secara signifikan yang dapat disebabkan berbagai faktor seperti inhibisi dari senyawa lain yang berasal dari rokok, kandungan benzena yang berbeda-beda pada berbagai jenis rokok, serta didukung oleh metabolisme benzena yang berbeda-beda di setiap individu.

Pengukuran SPMA sebagai biomarker paparan benzena dapat didukung dengan metode ukur yang komprehensif dengan mengkorelasikan konsentrasi SPMA dalam urin dengan berbagai variabel yang dapat mempengaruhi tingkat paparan benzena ke dalam tubuh. Optimalisasi kondisi pengukuran SPMA dengan KCKT-UV

pun perlu diobservasi lebih lanjut untuk mendapatkan pemisahan SPMA yang baik dari matriks lain dalam urin.



DAFTAR PUSTAKA

1. International Agency for Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans; Some Industrial Chemicals and Dyestuff, Benzene, IARC, London, 1982.
2. Young Mann Baak , Byoung Yong Ahn, Hwang Shin Chang, Ji Hong Kim, Kyoung Ah Kim, and Young Lim. *Aplastic Anemia in a Petrochemical Factory Worker*. Environmental Health Perspectives (1999). 107 no. 10.
3. Kirkeleit J., Riise T., Bratveit M., Moen B. E. *Increased Risk of Acute Myelogenous Leukemia and Multiple Myeloma in a Historical Cohort of Upstream Petroleum Workers Exposed to Crude Oil*. Cancer Causes Control (2008) 19:13–23
4. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007. *Relevance to Public Health "Toxicological Profile for Benzene*. US Departement of Health dan Human Services, Georgia (page 12).
5. IPCS INCHEM (International Programme on Chemical Safety- INCHEM). BENZENE (Group 1). International Agency for Research on Cancer (IARC) - Summaries & Evaluations. International Agency for Research on Cancer (IARC) - Summaries & Evaluations (1987)
6. Sterza K., Köhlera D., Schettgenb T., Scherera G. *Enrichment and Properties of Urinary Pre-S-phenylmercapturic Acid (pre-SPMA)*. Elsevier CHROMB-16539 (2009) ; No. 4
7. Yan S. Ding, Bloun B. C.t, Valentin-Blasini L., Applewhite H.S, Xia Yang, Watson C. H, and Ashley D. L. *Simultaneous Determination of Six Mercapturic Acid Metabolites of Volatile Organic . Compounds in Human Urine*. Chem. Res. Toxicol. 2009, 22, 1018–1025. Hal 7
8. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007. *Health Effects Toxicological Profile for Benzene*. US Departement of Health dan Human Services, Georgia.

9. Marrubini, G., Dugheri, S., Pacenti, M., Coccini, T., Arcangeli, G., Cupelli, V. and Manzo, L.(2005). *Determination of S-phenylmercapturic acid by GC-MS and ELISA: a Comparison of the Two Methods*, *Biomarkers*, 10: 4, 238-251.
10. Boogard, Pieter J., van Sittert N J. *Suitability of S-Phenyl Mercapturic Acid and trans-trans-Muconic Acid as Biomarkers for Exposure to Low Concentrations of Benzene*. 1996. Shell Research and Technology Centre, Amsterdam, the Netherlands.
11. Sterza K, Köhlera D, Schettgenb T, Scherera G,. *Enrichment and Properties of Urinary pre-S-phenylmercapturic Acid (pre-SPMA)*. Elsevier CHROMB-16539 (2009) ; No. 4
12. Fustinonia S, Campoa L, Mercadantea R, Maninib P. *Methodological Issues in the Biological Monitoring of Urinary Benzene and S-phenylmercapturic Acid at Low Exposure Levels*. Elsevier CHROMB-16668; No. of Pages 7.
13. Inoue O., Kanno E., Kakizaki M., Watanabe T, Higashikawa K and Ikeda M. *Urinary Phenylmercapturic Acid as a Marker of Occupational Exposure to Benzene*. *Industrial Health* 2000, 38, 195–204
14. Tharnpoophasiam P., Kongtip P., Wongwit W., Fungladda W. and Kitayaporn D. *Simultaneous Determination of Trans,Transmuconic Acid and S-Phenylmercapturic Acid by High Pressure Liquid Chromatography and Its Application*. Mahidol University, Thailand (2004) *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004. 35 No.3 :718-723
15. IPCS INCHEM (International Programme on Chemical Safety- INCHEM). *BENZENE (Group 1)*. International Agency for Research on Cancer (IARC) - Summaries & Evaluations. International Agency for Research on Cancer (IARC) - Summaries & Evaluations (1987)
16. Fessenden Ralp J. Joan S. Fessenden. *Kimia Organik Jilid 1*. 1982. Jakarta: Erlangga. Hal 463

17. Khairani N. *Studi Deteksi Benzo[a]Pyrene-DNA Adduct sebagai Biomarker Resiko Kanker Akibat Paparan Polisiklik Aromatik Hidrokarbon*. Departemen Kimia FMIPA UI (2008): Depok.
18. Korte J. E, Hertz-Picciotto I., Schulz M. R, Ball L. M,² and Duell E. J. *The Contribution of Benzene to Smoking-Induced Leukemia*. Environmental Health Perspectives • Volume 108, Number 4, April 2000-17-
19. Human health and the environment.
<http://www.aromaticsonline.net/aromatics-human-health-and-the-environment.html>. Diunduh pada tanggal 26 maret 2010.
20. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007. Production, Import/Export, Use, and Disposal “Toxicological Profile for Benzene. US Departemen of Health dan Human Services, Georgia.
21. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007. Health Effects “Toxicological Profile for Benzene. US Departemen of Health dan Human Services, Georgia. Snyder R, Gisela Witz, Bernard D. Goldstein. *The Toxicology of Benzene*. 1993. Environmental Health Perspectives Vol. 100, pp. 293-306, 1993
22. Mann Baak Young, Byoung Yong Ahn, Hwang Shin Chang, Ji Hong Kim, Kyoung Ah Kim, and Young Lim. *Aplastic Anemia in a Petrochemical Factory Worker*. 1999. *Environmental Health Perspectives* Volume 107, Number 10, October 1999
23. Qu, Qingshan, Roy Shore, Guilan Li, Lin Su, Ximei Jin, Asseih A. Melikian, Nirmal Roy, Lung Chi Chen, Isaac Wirgin, Beverly Cohen, Songnian Yin, Yying Li, Ruidong Mu. *Biomarker of benzene: Urinary metabolites in relation to individual genotype and personal exposure*. *Chemico-Biological Interactions* 153–154 (2005) 85–95
24. Byung-IL Yoon,¹ Guang-Xun Li,¹ Kunito Kitada,² Yasushi Kawasaki,¹ Katsuhide Igarashi,¹ Yukio Kodama,¹ Tomoaki Inoue,² Kazuko Kobayashi,² Jun Kanno,¹ Dae-Yong Kim,³ Tohru Inoue,⁴ and Yoko Hirabayashi. *Mechanisms of Benzene-Induced Hematotoxicity and Leukemogenicity: cDNA*

- Microarray Analyses Using Mouse Bone Marrow Tissue*. 2003. Environmental Health Perspective.
25. Snyder R. and Christine C., Hedli C. C. *An Overview of Benzene Metabolism* Environmental Health Perspectives, Volume 104, Supplement 6, December 1996
26. Oikawa S. *Sequence-Specific DNA Damage by Reactive Oxygen Species: Implication for Carcinogenesis and Aging*. 2005. [Environmental Health and Preventive Medicine 10, 65–71, March 2005]
27. Neal MJ. *Farmakologi Medis at a Glance edisi kelima*. 2006. Penerbit Erlangga
28. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007. Analytical methods “Toxicological Profile for Benzene. US Department of Health dan Human Services, Georgia.
29. Glutathione. <http://en.wikipedia.org/wiki/Glutathione>. Diunduh pada tanggal 8 april 2010
30. Gambar glutation ”Chemical Register: The Online Chemical Buyer’s Guide” (<http://www.chemicalregister.com/L-Glutathione/Suppliers/pid16704.htm>) diunduh pada tanggal 8 april 2010
31. Sterza K, Köhlera D., Schettgenb T., Scherera G. *Enrichment and properties of urinary pre-S-phenylmercapturic acid (pre-SPMA)*. 2009. Elsevier CHROMB-16539; No. 4
32. Tsuchida S., Glutation Transferases. *Encyclopedia of Cancer* Copyright. 1997. Elsevier Science (USA). Volume 2
33. Lauwerys R.R., Hoet P. *Industrial Chemical Exposure Guidelines for Biological Monitoring* (hal. 203). 2001. CRC Press
34. Khan H.A. *A Concise Review of Chromatographic Methods for the Analysis-34-of Benzene and its Metabolites*. 2005. CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA 79 (2) 169-175 (2006)
35. Wyss M., Kaddurah-Daouk R. *Creatine and Creatinine Metabolism*. 2000: Physiological Reviews Vol. 80, No. 3, July 2000 Printed in U.S.A.

36. Underwood R. A. Day, Underwood A. L. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi keenam*.1998. Penerbit Erlangga: Jakarta.
37. Skoog, West, Holler, Crouch. *Fundamentals of Analytical Chemistry Eight Edition*.2004.Thompson Learning Inc. :USA
38. Jim Clark. “Kromatografi Cair Kinerja Tinggi”. http://www.chem-is-try.org/kromatografi_cair_kinerja_tinggi. Diunduh pada tanggal 12 april 2010.
39. Skov H., Hansen A. B, Lorenzen G., Andersen H. V,Per Lofstrom , Christensen C. S. *Benzene exposure and the elect of trafic pollution in Copenhagen, Denmark*.2000. Atmospheric Environment 35 (2001) 2463}2471
40. Wicaksono A. A. A. Artikel : *Gasoline*. www.ptkakamigasstem.com. diunduh pada 20 mei 2010.
41. Sudarmadi J. P. “Artikel: *Angka Oktan dan Pencemaran Udara*” <http://www.kpbb.org/download/Angka%20Oktan%20dan%20Pencemaran%20Udara.pdf> .diunduh pada 20 mei 2010
42. Octane Rating. http://en.wikipedia.org/wiki/Octane_rating. Diunduh pada 23 Mei 2010.
43. Keputusan Direktur Jendral Minyak dan Gas bumi Nomor : 3674 K/24/DJM/2006. *Standar dan Mutu (Spesifikasi) Bahan bakar Minyak Jenis Bensin yang Dipasarkan di Dalam Negeri*. Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral Republik Indonesia.
44. Keputusan Direktur Jendral Minyak dan Gas bumi Nomor : 3675 K/24/DJM/2006. *Standar dan Mutu (Spesifikasi) Bahan bakar Minyak Jenis Solar yang Dipasarkan di Dalam Negeri*. Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral Republik Indonesia.
45. Watanabe M., Funabiki K., Tsuge T., Maeda K., Horikoshi S., and Tomino Y. *Using Protein/Creatinine Ratios in Random Urine. Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 19:160–166 (2005)

46. Falco P. C, Genaro L. A. T, Lloret M. S, Gomez F. B, Cabeza A. S., Legua C. M. *Creatinine Determination in Urine Samples by Batchwise Kinetic Procedure and Flow Injection Analysis Using the Jaffe´reaction: Chemometric Study*. *Talanta* 55 (2001) 1079–1089
47. Kromidas S. *Practical Problem Solving of HPLC*. 2004. Germany: WILEY-ICH.
48. Ethyl Acetate. http://en.wikipedia.org/wiki/Ethyl_Acetate. Diunduh pada tanggal 13 Juni 2010.
49. Medinsky M.A., Kenyon E. M., Seaton M.J, Schlosser P, M. *Mechanistic Considerations in Benzene Physiological Model Development*. 1996. *Environmental Health Perspective*. Vol, 104 Supplement 6.
50. Paci E., Pignini D., Cialdella A M., Faranda P., Tranfo G., *Determination of free and total S-phenylmercapturic acid by HPLC/MS/MS in the biological monitoring of benzene exposure*. 2007. vol 12 (issue 2) : pp 111-22.
51. Urine Creatinine Levels. <http://www.buzzle.com/articles/urine-creatinine-levels.html>. Diunduh pada tanggal 15 Juni 2010.
52. Sabri L., Hastono S. P., *Statistik Kesehatan*. 2006. Jakarta: Rajagrafindo Persada.

LAMPIRAN 1: DATA KONDISI ANALISIS ASAM S-FENILMERKAPTURAT (SPMA)

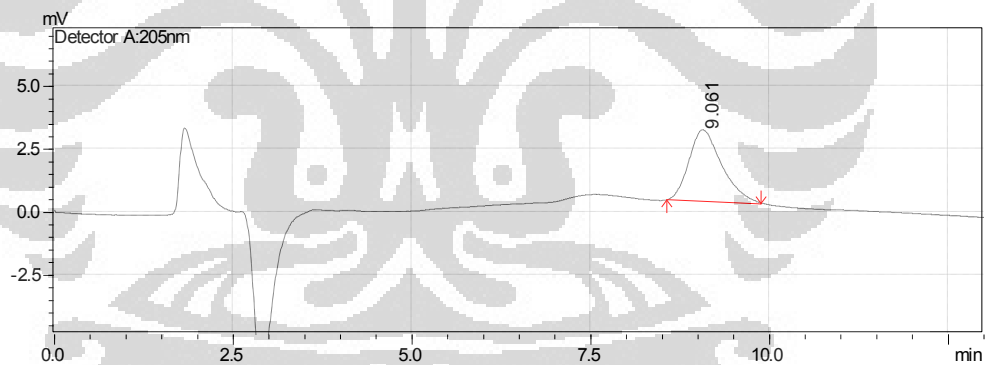
A. KONDISI OPTIMUM ANALISIS SPMA

Kondisi Pengukuran

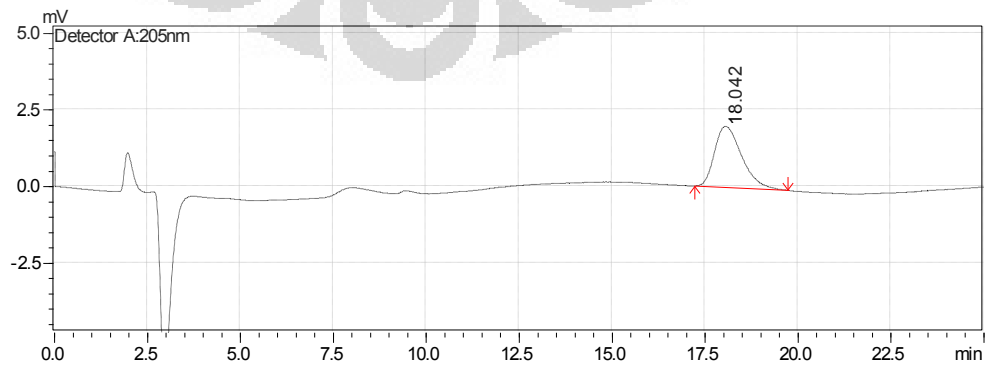
Kolom : LichroCART® RP-18, 5µm, panjang 250 mm, diameter dalam (ID) 4,6 mm (MERCK)
Pompa : Shimadzu LC-6A
Detektor : UV-Visibel (SPD 20-A)
Panjang Gelombang : 205 nm
Fasa gerak : Metanol-asam perklorat 0,0012 N (35:65)
Volume Injeksi : 20µL
Waktu retensi : ±18 menit

Komposisi Fasa gerak metanol:asam perklorat 0.0012 N	Waktu Retensi (menit)
40:60	9
35:65	18
30:70	25

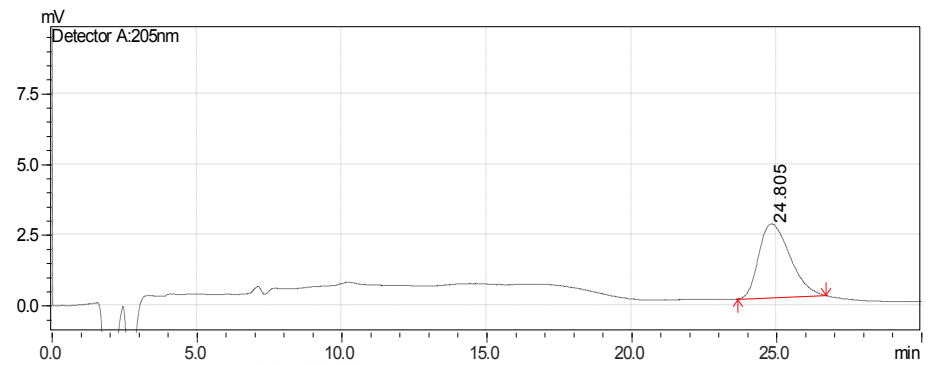
1. Metanol:asam perklorat 0.0012 N = 40:60



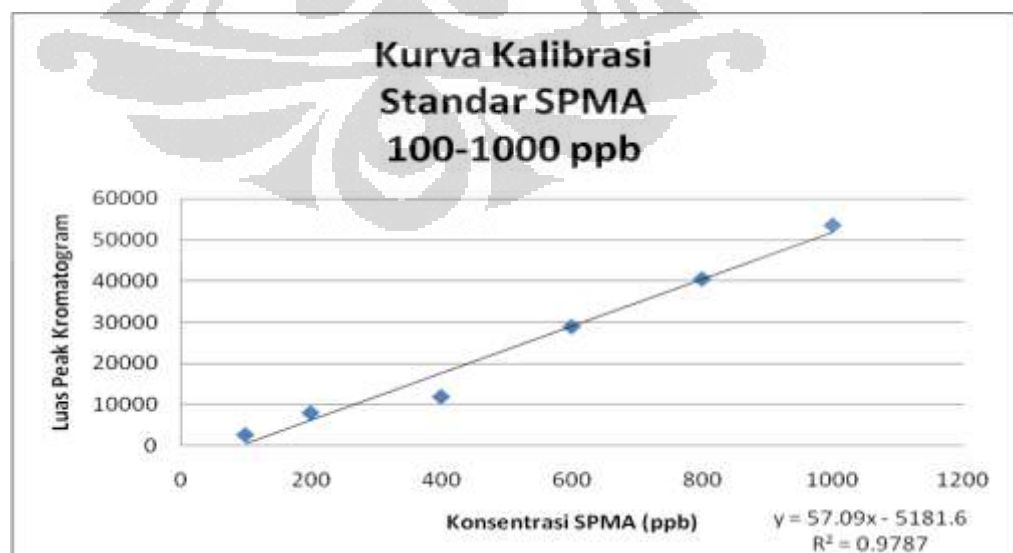
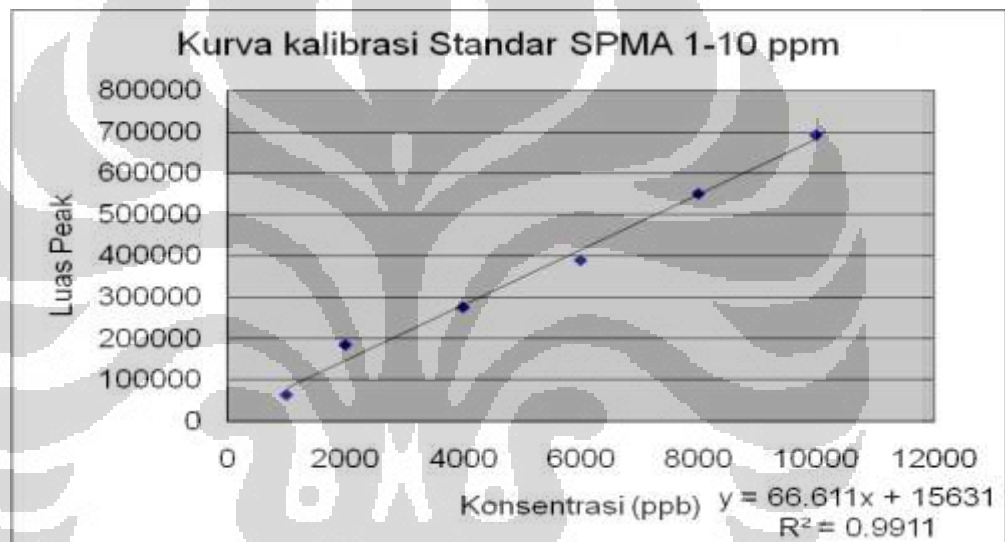
2. Metanol:asam perklorat 0.0012 N = 35:65



3. Metanol:asam perklorat 0.0012 N = 30:70

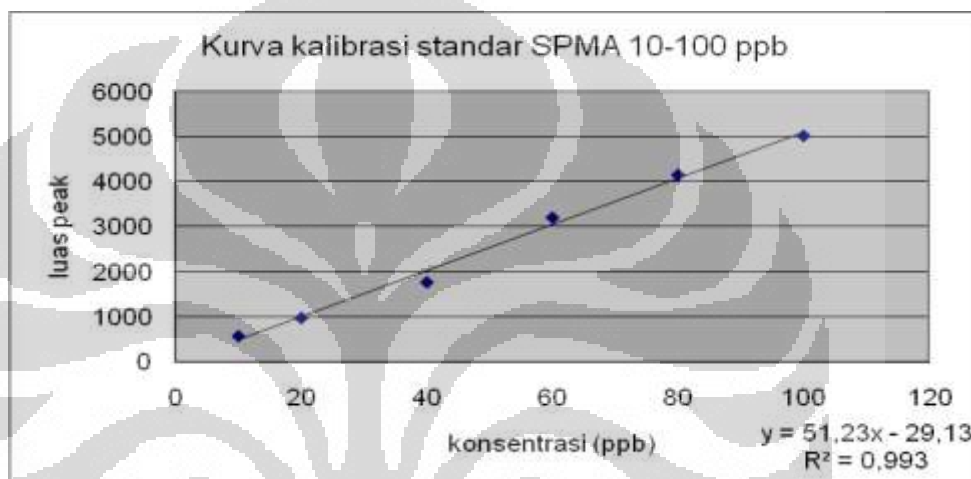


B. KURVA KALIBRASI STÁNDAR SPMA



C. PENENTUAN BATAS DETEKSI (LOD) DAN BATAS KUANTIFIKASI (LOQ)

Konsentrasi SPMA ($\mu\text{g/L}$)	Luas Area
10	575
20	977
40	1771
60	3207
80	4152
100	5423



persamaan kurva kalibrasi: $y = 51.23x - 29.13$

Konsentrasi ($\mu\text{g/L}$)	Luas puncak (y)	Luas puncak (y')	Selisih ($y - y'$)	$(y - y')^2$
10	575	417,49	-157,51	24809,4
20	977	961,65	-15,35	235,6225
40	1771	2049,97	278,97	77824,26
60	3207	3138,29	-68,71	4721,064
80	4156	4226,61	70,61	4985,772
100	5423	5314,93	-108,07	11679,12
			jumlah	124255,2

keterangan :

$$y' = ((b \cdot \text{conc}) + c) \quad b = 93.1 \quad c = 43,1$$

$$S_y = \sqrt{\sum (y - y')^2 / n - 2} = 249,25$$

$$\text{LOD} = (3 \cdot S_y) / b = 13.74 \mu\text{g/L}$$

$$\text{LOQ} = (10 \cdot S_y) / b = 45.80 \mu\text{g/L}$$

Volume pelarut residu SPMA yang digunakan = 1 mL, maka :

$$\text{LOD} = 1 \text{ mL} \times 13,74 \mu\text{g/L} \times 1 \text{ L} / 10^3 \text{ mL} = 13,74 \text{ ng SPMA}$$

$$\text{LOQ} = 1 \text{ mL} \times 45,80 \mu\text{g/L} \times 1 \text{ L} / 10^3 \text{ mL} = 45,80 \text{ ng SPMA}$$

D. PRESISI

PRESISI ELUEN metanol : asam perklorat 0,0012 N (35:65)

%KV < 2%

konsentrasi (ppb)	y	y'	y-y'	(y-y') ²	∑(y-y') ²	SD	%KV
5000	333622		-				
			13406	1.8E+08			
	333956		-				
			13072	1.71E+08			
	333002	347028	14026	1.97E+08	1.97E+08	6272.618	1.81
			-				
8000	333215		13813	1.91E+08			
			-				
	334299		12729	1.62E+08			
			-				
	333402		13626	1.86E+08			
			-				
10000	550552		2287	5230369			
			-864	746496			
	550088	548265	1823	3323329	3323329	815.2704	0.15
			-4001	16008001			
	544264		-1037	1075369			
			5943	35319249			
10000	554208		-				
			16144	2.61E+08			
	666279		-				
			14526	2.11E+08			
	667897	682423	12346	1.52E+08	1.52E+08	5521.299	0.81
			-5432	29506624			
		-1571	2468041				
		-5955	35462025				

$$y' = b \cdot \text{conc} + a$$

$$SD = \frac{\sqrt{\sum (y-y')^2}}{n-1}$$

$$a = 11633$$

$$b = 67.079$$

$$\%KV = SD/y' \times 100\%$$

PRESISI ELUEN metanol : asam perklorat 0.0012 N (35:65)

%KV < 2%

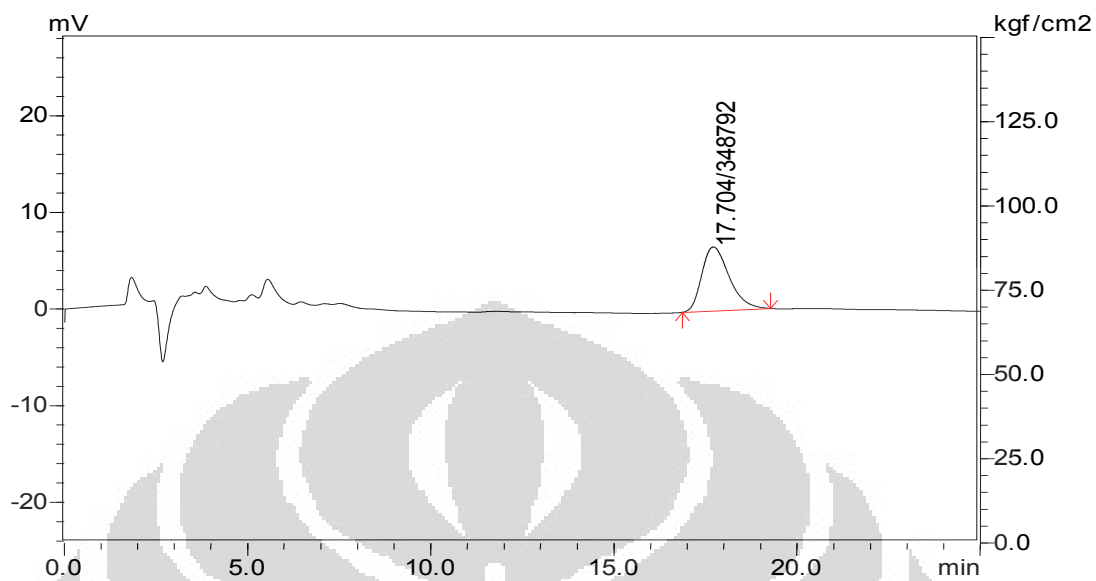
konsentrasi (ppb)	y	y'	y-y'	(y-y') ²	∑(y-y') ²	SD	%KV
600	26660	29072.4	-	5819674	345038.8	262.6933	0.90
	30251		2412.4	1389098			
	28485		-587.4	345038.8			
	29448		375.6	141075.4			
	32616		3543.6	12557101			
	28984		-88.4	7814.56			
	800		40138	40490.4			
44581		4090.6	16733008				
41758		1267.6	1606810				
46614		6123.6	37498477				
42496		2005.6	4022431				
40545		54.6	2981.16				
1000	51170	51908.4	-738.4	545234.6	2868281	757.4009	1.46
	55639		3730.6	13917376			
	53602		1693.6	2868281			
			-				
	50087		1821.4	3317498			
	51707		-201.4	40561.96			
	52797		888.6	789610			

$y' = b \cdot \text{conc} + a$	a	-5181.6
$SD = \sqrt{\frac{\sum(y - y')^2}{n-1}}$	b	57.09

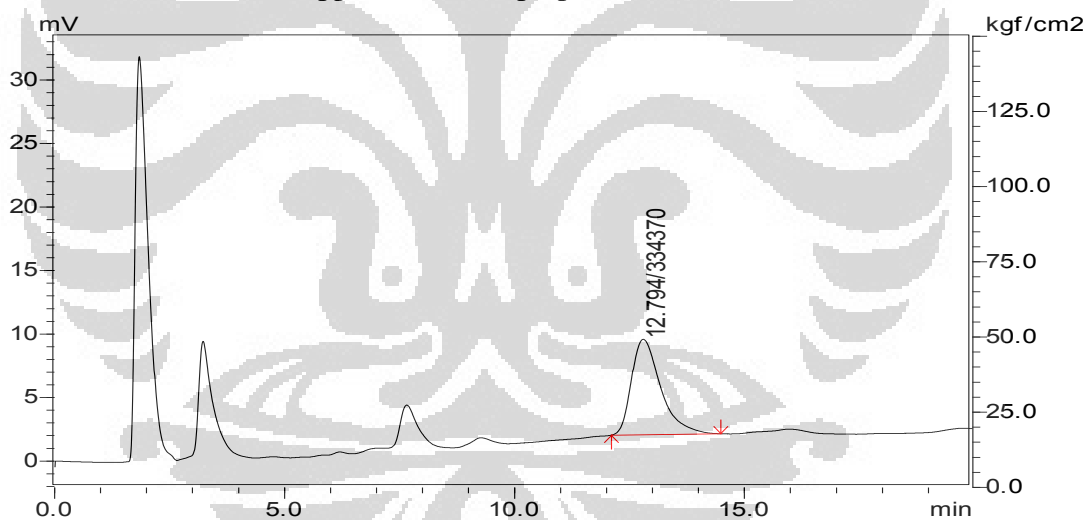
$$\%KV = SD/y' \times 100\%$$

E. PEROLEHAN KEMBALI

Standar SPMA 5 ppm sebelum dipreparasi



Standar SPMA 5 ppm sesudah dipreparasi



Perhitungan Prosentase Perolehan Kembali

1. Standar 5 ppm setelah dipreparasi

Kalibrasi

$$y = 66.611x + 15631$$

$$348792 = 66.611x + 15631$$

$$x = 5001.6 \text{ ppb}$$

2. Standar 5 ppm sesudah dipreparasi

Kalibrasi

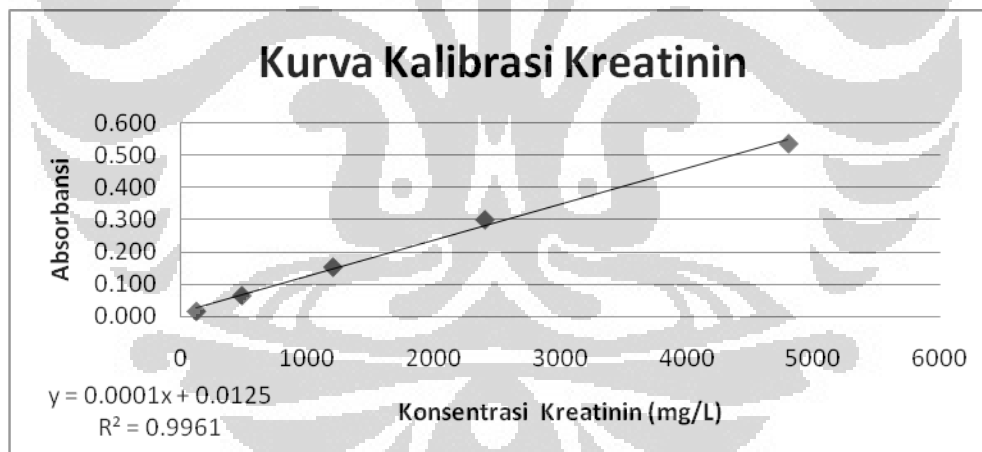
$$y = 66.611x + 15631$$

$$334370 = 66.611x + 15631$$

$$x = 4785.08 \text{ ppb}$$

$$\% \text{ perolehan kembali} = 4785.08/5001.6 \times 100\% = 95.7 \%$$

F. KURVA KALIBRASI PENGUKURAN KREATININ



LAMPIRAN 2: PERHITUNGAN STATISTIK

A. Rata-rata konsentrasi SPMA dalam sampel

SAMPEL	n	mean	SD
Polisi merokok lebih dari atau sama dengan 10 batang rokok/hari (PL \geq 10)	9	160.14	79.14
Polisi yang merokok kurang dari 10 batang/hari(PL<10)	8	153.49	74.09
Polisi lalu lintas	25	124.84	80.10
Polisi lalu lintas Merokok (PLM)	17	150.44	75.14
Tidak merokok (PLTM)	8	70.43	64.21
Kontrol (C)	10	14.30	19.61

*keterangan : Data Sampel PL22, PL37, dan PL19 tidak diikutsertakan

Rumus Beda Mean Anova *Single Factor*

$$\bar{X} = \frac{n_1 \cdot X_1 + n_2 \cdot X_2}{N}$$

$$S_b^2 = \frac{n_1(X_1 - \bar{X})^2 + n_2(X_2 - \bar{X})^2}{k-1}$$

$$S_w^2 = \frac{(n_1-1)S_1^2 + (n_2-1)S_2^2}{N-k}$$

$$F \text{ hitung} = \frac{S_b^2}{S_w^2}$$

B. Uji Beda Rata-rata Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas (PL) dengan Kontrol(C)

Ho = tidak ada perbedaan konsentrasi SPMA pada PL dengan C

Hi = ada perbedaan konsentrasi SPMA pada PL dengan C

$\alpha = 0,05$

$$\bar{X} = \frac{(25 \cdot 124.84) + (10 \cdot 14.3)}{35} = 93.25$$

$$S_b^2 = \frac{25(124.84 - 93.25)^2 + 10(14.3 - 93.25)^2}{1} = 97277.03$$

$$S_w^2 = \frac{(24)80.1^2 + (9)19.61^2}{33} = 4772.11$$

$$F = 97277.03 / 4772.11 = 18.29$$

$p < 0,001$

F crit = 4.17 (f = 1, df = 33)

Kesimpulan : Ho ditolak

C. Uji Beda Rata-rata Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas Merokok (PLM) dengan Polisi Lalu Lintas Tidak Merokok (PLTM)

Ho = tidak ada perbedaan konsentrasi SPMA pada PLM dengan PLTM

Hi = ada perbedaan konsentrasi SPMA pada PLM dengan PLTM

$\alpha = 0,05$

$$X = \frac{(17 \cdot 150.44) + (9 \cdot 70.43)}{25} = 127.11$$

$$S_b^2 = \frac{17(150.44 - 127.11)^2 + 9(70.43 - 127.11)^2}{1} = 31738.66$$

$$S_w^2 = \frac{(16)75.14 + (7)64.21^2}{23} = 5230.57$$

$$F = 31738.66 / 5230.57 = 6.06$$

$$0.025 < p < 0.01$$

$$F_{\text{crit}} = 4.35 \quad (f = 1, df = 23)$$

Kesimpulan : Ho ditolak

D. Uji Beda Rata-rata Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas Merokok lebih atau sama dengan 10 batang perhari (PLM ≥ 10) dengan Polisi Lalu Lintas merokok kurang dari 10 batang rokok perhari (PLTM < 10)

Ho = tidak ada perbedaan konsentrasi SPMA pada PLM ≥ 10 dengan PLM < 10

Hi = ada perbedaan konsentrasi SPMA pada PLM ≥ 10 dengan PLM < 10

$\alpha = 0,05$

$$X = \frac{(9 \cdot 160.14) + (8 \cdot 153.49)}{17} = 157.01$$

$$S_b^2 = \frac{9(160.14 - 157.01)^2 + 8(153.49 - 157.01)^2}{1} = 187.81$$

$$S_w^2 = \frac{(8)79.14^2 + (7)64.21^2}{23} = 5230.57$$

$$F = 187.81 / 5230.57 = 0.03$$

$$p > 0.1$$

$$F_{\text{crit}} = 3.49 \quad (f = 1, df = 17)$$

Kesimpulan : Ho diterima

E. Uji Beda Rata-rata Konsentrasi SPMA Polisi Lalu Lintas Tidak Merokok (PLTM) dengan Kontrol (C)

Ho = tidak ada perbedaan konsentrasi SPMA pada PLTM dengan C

Hi = ada perbedaan konsentrasi SPMA pada PLTM dengan C

$\alpha = 0,05$

$$X = \frac{(9 \cdot 70.43) + (10 \cdot 14.3)}{19} = 39.25$$

$$S_b^2 = \frac{9(70.43 - 39.25)^2 + 8(14.3 - 39.25)^2}{1} = 14004.58$$

$$S_w^2 = \frac{(8)64.21^2 + (7)19.61^2}{17} = 2020.155$$

$F = 14004.58 / 2020.15 = 6.93$
 $p > 0.1$
 $0.025 < p < 0.01$
 $F_{\text{crit}} = 4.41$ ($f = 1, df = 17$)
 Kesimpulan : H_0 ditolak

F. 1. Uji Korelasi Lama Bekerja dengan Paparan Benzena

Kekuatan hubungan korelasi menurut Colton

$r = 0.00 - 0.25 \rightarrow$ tidak ada hubungan/ hubungan lemah

$r = 0.26 - 0.50 \rightarrow$ hubungan sedang

$r = 0.51 - 0.75 \rightarrow$ hubunga kuat

$r = 0.75 - 1.00 \rightarrow$ hubungan sangat kuat

$$r = \frac{n(\sum XY) - (\sum X \sum Y)}{\sqrt{[n\sum X^2 - (\sum X)^2] [n\sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

$$r = \frac{9(11222.91) - (563.49 \cdot 137)}{\sqrt{[9\sum 563.49 - 317525.5] [9 \cdot 137 - 18769]}}$$

$$r = 0,66$$

kesimpulan: hubungan konsentrasi SPMA dengan Lama bekerja kuat

2. Uji Hipotesis

Uji t

H_0 = tidak ada hubungan lama bekerja dengan paparan benzena

H_1 = ada hubungan lama bekerja dengan paparan benzena

$\alpha = 0,05$

$$t = r \frac{n-2}{\sqrt{1-r^2}}$$

$$t = 0.66 \frac{8-2}{\sqrt{1-0.66^2}}$$

$$= 5.31$$

$P < 0.005$

Kesimpulan : H_0 ditolak

LAMPIRAN 3: KUISIONER

PENJELASAN MENGENAI PENELITIAN
STUDI BIOINDIKATOR KERUSAKAN DNA PADA PEKERJA
MELALUI
BIOMARKER 8-HIDROKSI-2-DEOKSIGUANOSIN
DAN
STUDI DETEKSI PAPARAN BENZENA PADA PEKERJA
MELALUI
BIOMARKER ASAM S-FENILMERKAPTURAT
BESERTA FORMULIR PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN

Kami meminta anda untuk turut mengambil bagian dalam suatu penelitian yang berjudul ‘Studi Bioindikator Kerusakan DNA pada Pekerja melalui Biomarker 8-Hidroksi-2-Deoksiganosin dan Studi Deteksi Paparan Benzene pada Pekerja melalui Biomarker Asam S-Fenilmerkapturat. Penelitian ini ingin melihat adanya kemungkinan resiko kanker dan gangguan kesehatan yang disebabkan oleh senyawa karsinogenik (senyawa penyebab kanker) dan benzene (senyawa yang dapat menyebabkan gangguan fungsi saraf dan pembentukan sel darah).

Penelitian ini akan dilakukan oleh Fery dan Kartika Metafisika, mahasiswa dan mahasiswi sarjana strata satu ilmu kimia, fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, untuk mengetahui adanya pembentukan biomarker penyebab kanker dan benzene melalui analisis urine orang yang beresiko terpapar senyawa karsinogenik maupun benzene.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait senyawa karsinogenik dan benzene sebagai penyebab kanker dan salah satu penyebab gangguan fungsi saraf dan pembentukan sel darah. Partisipasi anda dalam penelitian akan memberikan sumbangsih besar bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam mendeteksi secara dini resiko kanker dan gangguan fungsi saraf akibat bahan kimia di lingkungan. Partisipasi anda dalam penelitian ini tidak akan menyebabkan beban keuangan bagi anda atau keluarga anda.

Pengambilan Urin

Urine anda akan kami minta kira-kira sebanyak 50 mL untuk keperluan penelitian kami. Urine ini akan kami periksa untuk mengetahui adanya biomarker (penanda biologik) berupa 8-Hidroksi-2-Deoksiganosin terhadap kerusakan DNA atau resiko kanker dan Asam S-Fenilmerkapturat terhadap paparan benzene. Pengambilan urine ini tidak beresiko terhadap kesehatan.

Kerahasiaan

Semua data penelitian ini akan diperlakukan secara rahasia sehingga tidak mungkin orang lain menghubungkannya dengan Anda. Anda diberi kesempatan untuk menanyakan semua hal yang belum jelas sehubungan dengan penelitian ini. Anda dapat menghubungi Dr. rer. nat. Budiawan melalui telepon (021) 772-11984 atau melalui surat dengan alamat Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok 16424. Surat persetujuan ini akhirnya akan disimpan di sini.

Universitas Indonesia

Partisipasi Sukarela

Bila anda bersedia berpartisipasi, peneliti akan menanyakan beberapa pertanyaan yang berkaitan dengan riwayat pekerjaan, riwayat penyakit dan kebiasaan hidup Anda sehari-hari yang memiliki resiko untuk terjadinya paparan lain melalui lingkungan.

Anda tidak dapat dan tidak akan dipaksa untuk ikut serta dalam penelitian ini bila Anda tidak menghendakinya. Anda hanya boleh ikut mengambil bagian atas kehendak Anda sendiri. Anda berhak untuk menolak ikut serta dalam penelitian ini tanpa perlu memberikan suatu alasan. Bila Anda memutuskan untuk tidak berpartisipasi, tak seorang pun boleh melakukan diskriminasi apapun terhadap Anda.

Tanda tangan

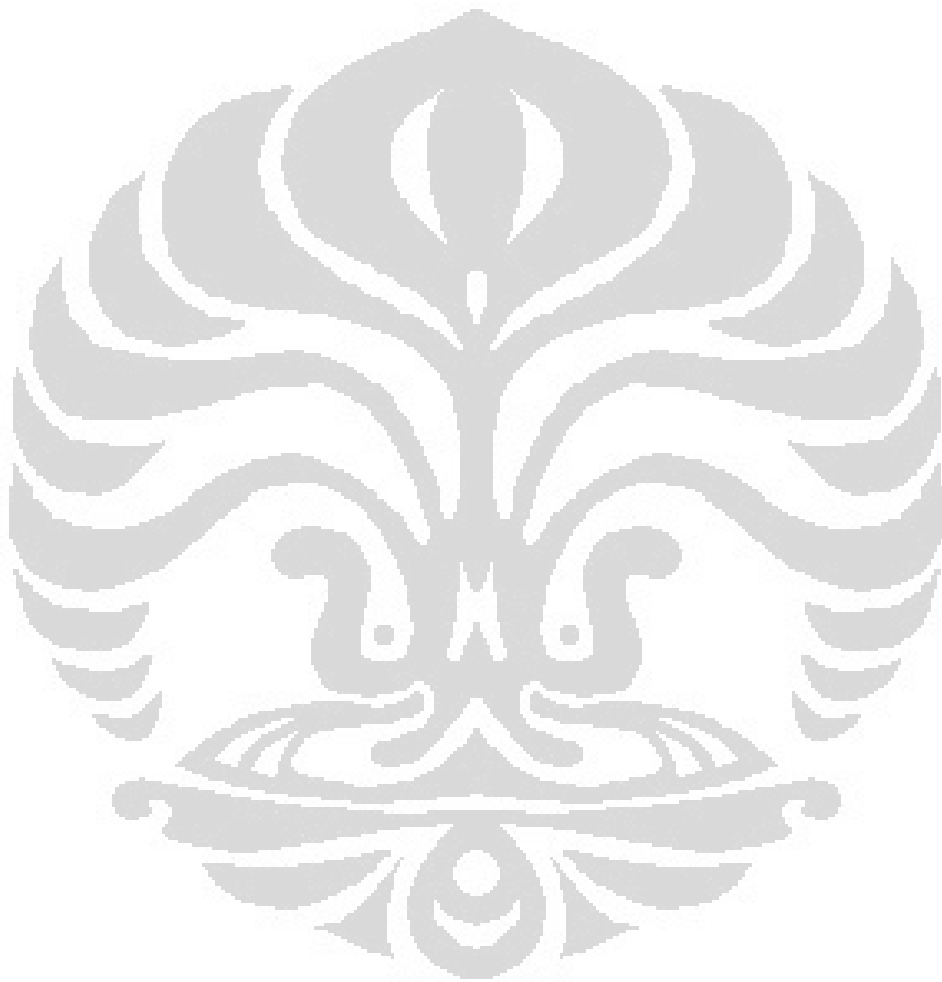
Saya telah membaca, atau dibacakan kepada saya apa yang tertera di atas ini, dan saya telah diberi kesempatan untuk mengajukan pertanyaan-pertanyaan dan membicarakan kegiatan penelitian ini dengan para anggota tim penelitian. Saya memahami maksud, resiko, lamanya waktu dan prosedur penelitian ini. Dengan membubuhkan tanda tangan saya di bawah ini, saya menegaskan keikutsertaan saya secara sukarela dalam kegiatan penelitian ini. Saya telah menerima tembusan dari surat persetujuan ini.

-
Tanda tangan dan nama peserta sukarela/ wali

tanggal

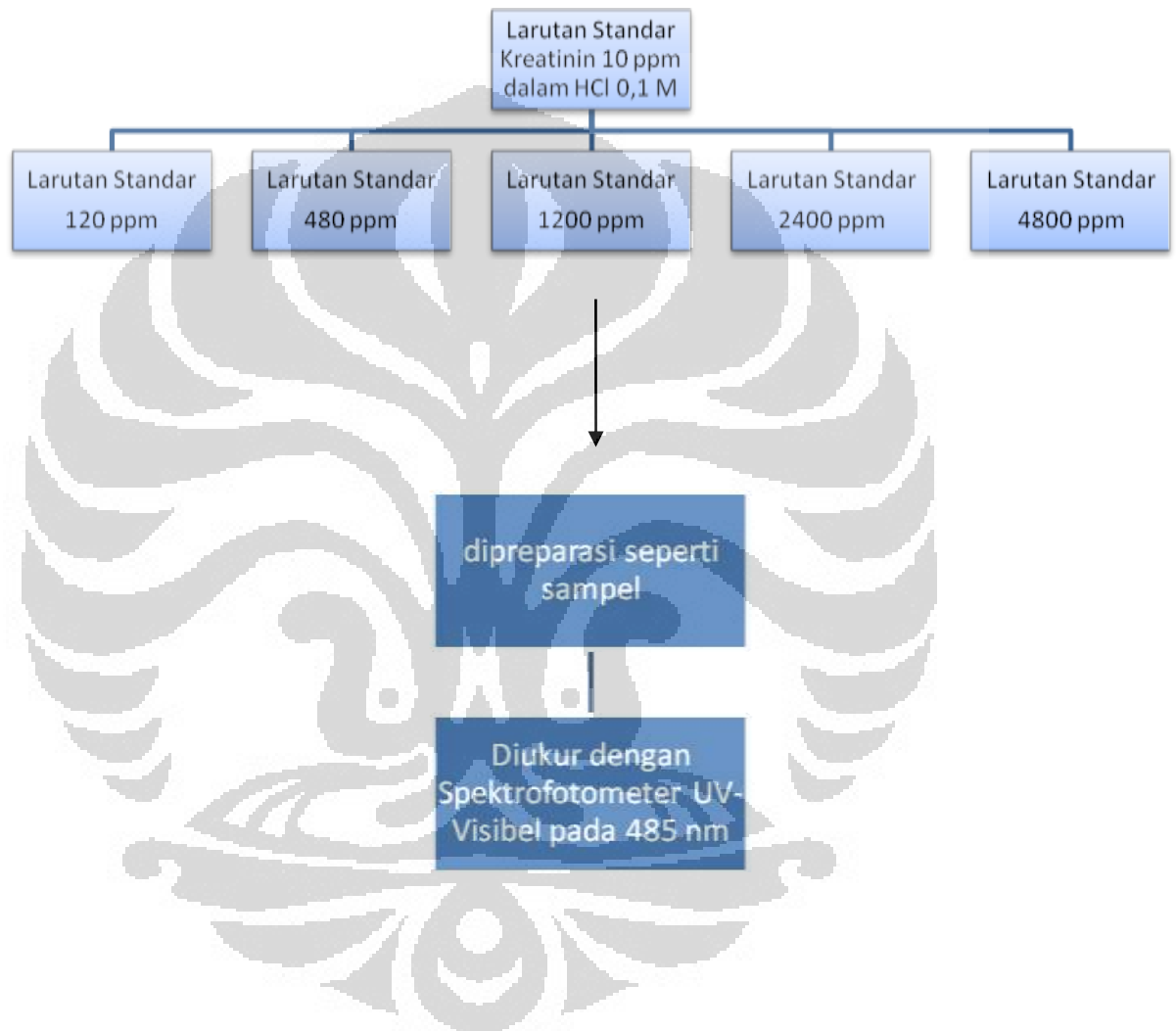
-
Tanda tangan dan nama peneliti

tanggal

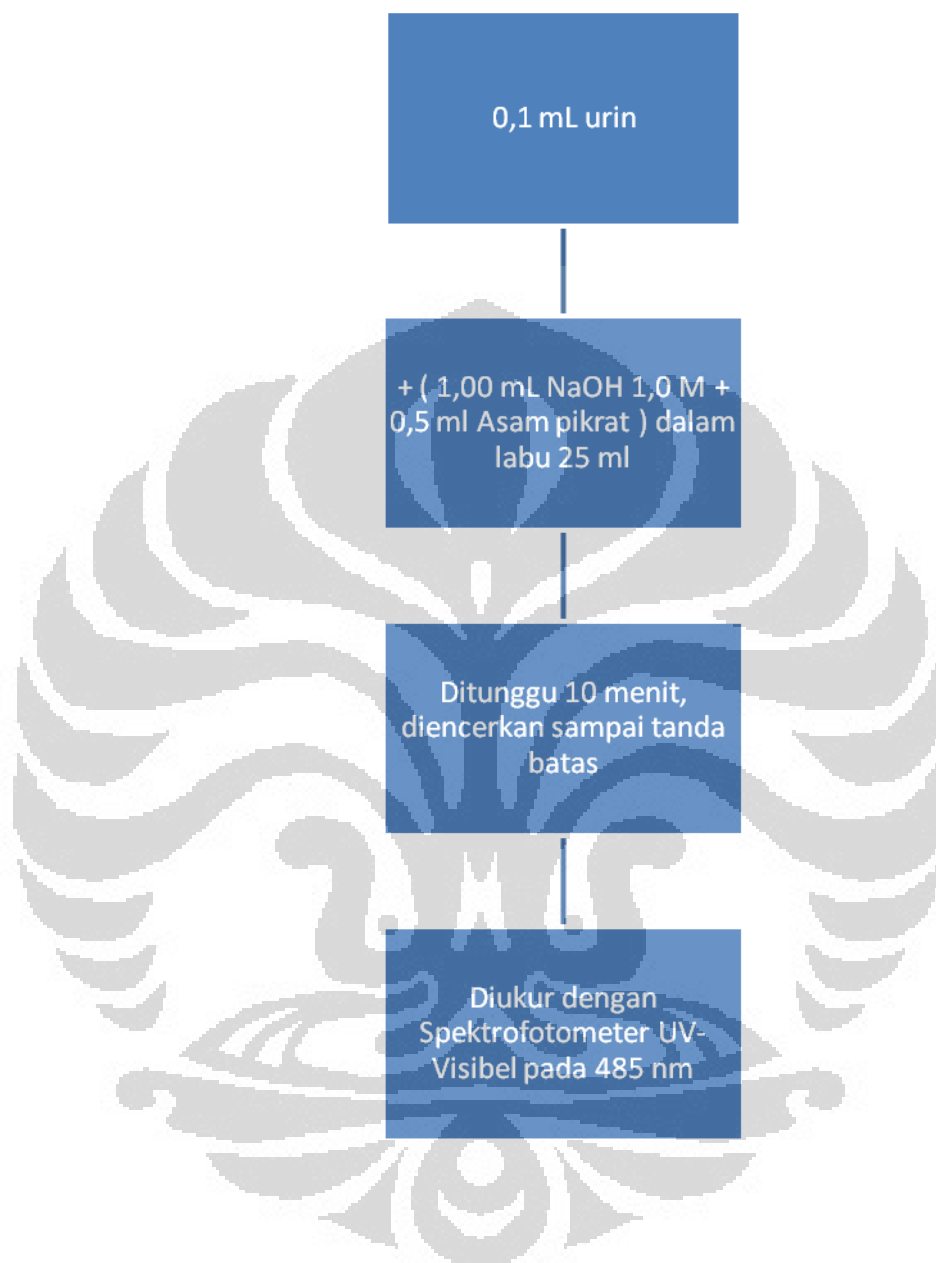


LAMPIRAN 4 : BAGAN CARA KERJA

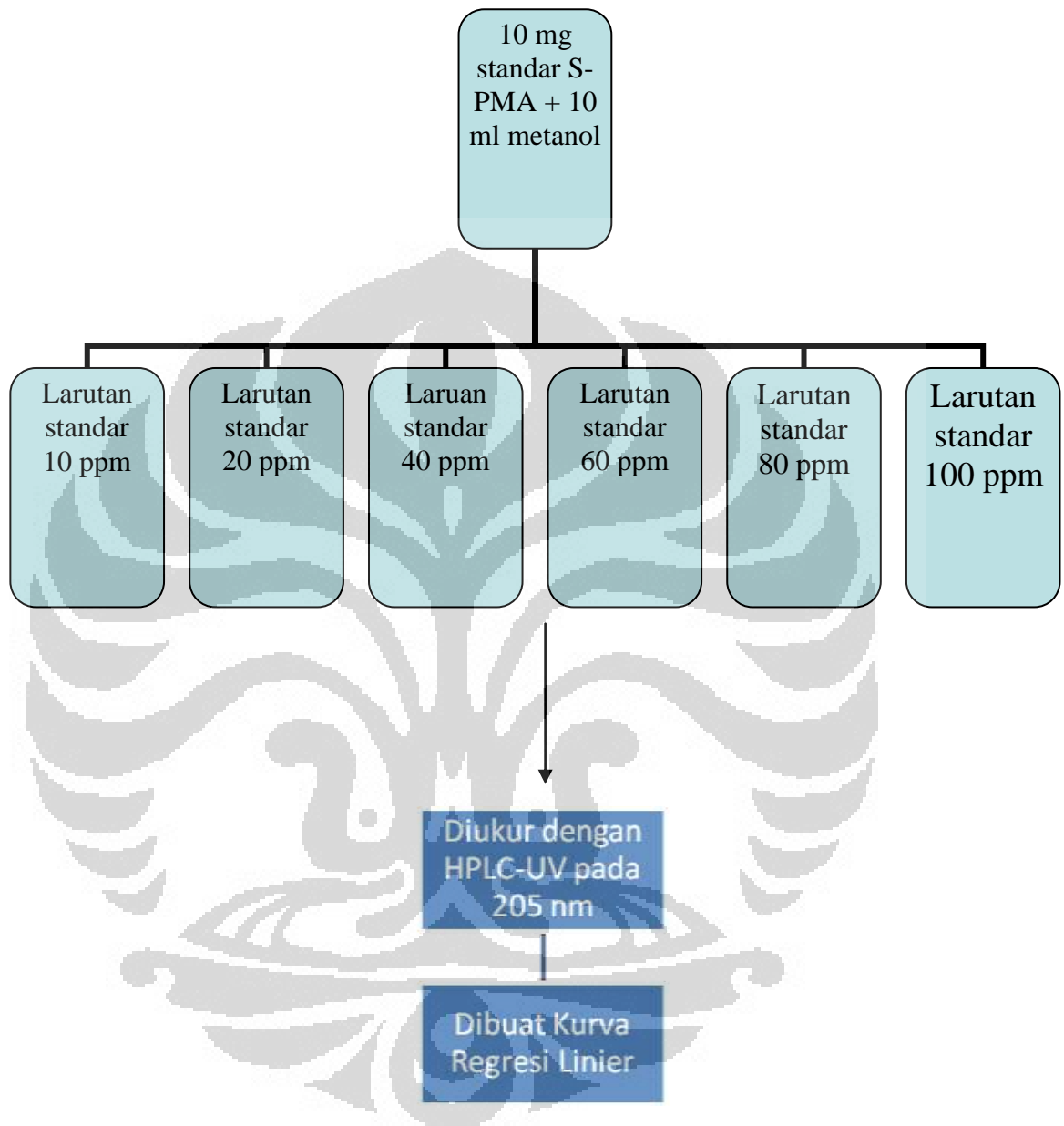
1. BAGAN CARA KERJA PREPARASI LARUTAN STANDAR KREATININ



2. BAGAN CARA KERJA ANALISIS KREATININ SAMPEL URIN



3. BAGAN CARA KERJA PREPARASI DAN PENGUKURAN LARUTAN STANDAR ASAM S-FENILMERKAPTURAT (SPMA)



4. BAGAN CARA KERJA ANALISIS ASAM S-FENILMERKAPTURAT (SPMA)

