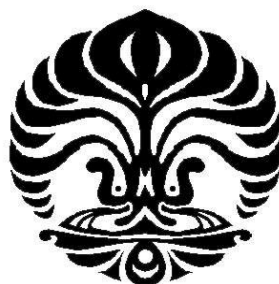


**STUDI DETEKSI ASAM S-FENIL MERKAPTURAT SEBAGAI
BIOMARKER PAPARAN BENZENA PADA PETUGAS BEBERAPA
STASIUN PENGISIAN BAHAN BAKAR UMUM (SPBU) DI JAKARTA**

SEPTIANA DWI PUSPASARI

0304030529



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN KIMIA
DEPOK
2009**

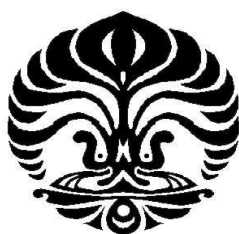
**STUDI DETEKSI ASAM S-FENIL MERKAPTURAT SEBAGAI
BIOMARKER PAPARAN BENZENA PADA PETUGAS BEBERAPA
STASIUN PENGISIAN BAHAN BAKAR UMUM (SPBU) DI JAKARTA**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

Oleh:

SEPTIANA DWI PUSPASARI

0304030529



DEPOK

2009

SKRIPSI : STUDI DETEKSI ASAM S-FENIL MERKAPTURAT SEBAGAI
BIOMARKER PAPARAN BENZENA PADA PETUGAS
BEBERAPA STASIUN PENGISIAN BAHAN BAKAR UMUM
(SPBU) DI JAKARTA

NAMA : SEPTIANA DWI PUSPASARI

NPM : 0304030529

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009

Dr. rer. nat. BUDIAWAN

Dra. SRI HANDAYANI, M.Biomed

PEMBIMBING I

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana : 9 JULI 2009

Penguji I : Dr. Herry Cahyana

Penguji II : Dra. Siswati Setiasih,. M.Si.....

Penguji III : Dra. Susilowati. Hs,. MSc.....

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis persembahkan kepada Allah SWT karena hanya Dia yang memberi kemauan dan kemampuan untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini tepat pada waktunya.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Mama, Ayah, Ibu, dan Maico untuk semua cinta dan kesabaran menghadapiku. Maaf untuk keterlambatan ini, tapi aku yakin selalu tersisa pelukan hangat dan uluran tangan itu tiap kali aku terpukul. *Hontou ni aishiteru... itsumademo.*

Rasa terima kasih juga penulis ucapkan kepada orang-orang yang telah membantu selama perkuliahan hingga penulisan skripsi ini:

1. Dr. rer. nat. Budiawan selaku pembimbing atas bantuan dan diskusi yang sangat berarti.
2. Dra. Sri Handayani M.Biomed selaku pembimbing II yang telah banyak membantu penulis selama penelitian.
3. Dr. Ridla Bakri selaku ketua Departemen Kimia FMIPA UI
4. Dra. Tresye Utari, M.Si. selaku koordinator penelitian yang telah memberikan bantuan dalam penelitian.
5. Dr. Riswiyanto selaku pembimbing akademik.
6. Seluruh Dosen yang selama ini telah mengajarkan ilmu-ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis.
7. Neera Khairani, untuk semua bantuan, kritik, saran, dan diskusi kita.

8. Pak Amin, Pak Kiri, Pak Hedi, Mbak Tri, Mbak Emma, Rasyid, serta staf departemen Kimia dan afiliasi yang telah membantu penelitian.
9. Sahabat - sahabatku: Eka, Niezha, Indah, Yoyo, Ridlo, Dinar, dan Irwan.
Aku senang bisa mengenal dan berada di antara kalian, di antara duka dan tawa itu. Mendengar kalian memanggilku "sahabat" adalah sesuatu yang tak ternilai. *Minna-san, arigatto!*
10. Ratih dan Habibah. Terima kasih untuk pengertiannya menghadapi keterlambatan dan kemalasanku.
11. Angkatan 2004, untuk keceriaan dan warna baru yang kalian bawa.
Terima kasih telah menjadi dan memberi inspirasi untukku.
12. Ria, Cicil, Aji, Why, Daniel, Adin, dan Wuri, untuk waktu kalian saat menemaniku di ruangan itu.
13. Teman - teman penelitian lantai 3 dan 4.
14. Angkatan 2002, 2003, 2005, 2006, 2007.
15. Jessi untuk perhitungan statistik yang sulit itu.
16. Keluarga besar di Rindam, Priok, Blitar, Depok dan Cengkareng.
17. "My MJ" untuk semua pinjaman semangat, perhatian, dan buku-buku itu.
Hitori kiri ja ikite yukenai kara, Samisshikatta ne!!!

Akhir kata semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Amin.

Penulis

2009

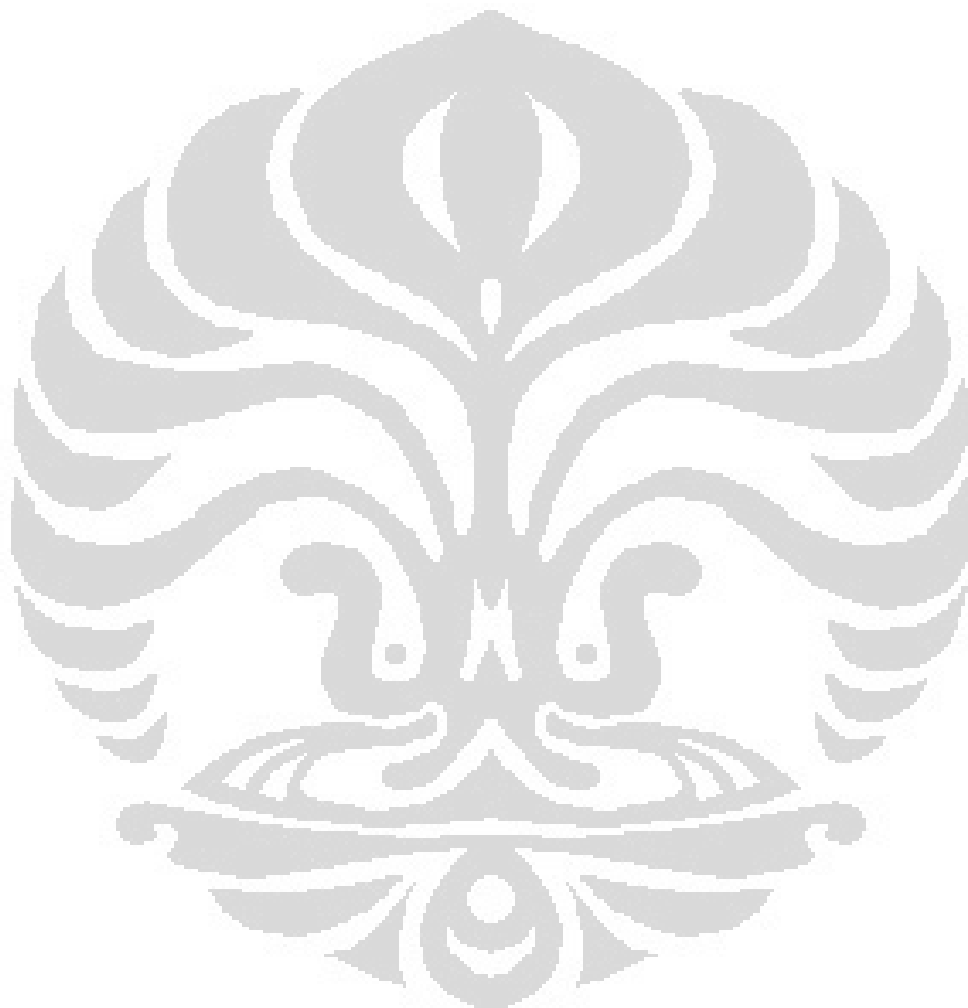
ABSTRAK

Dengan digantikannya fungsi timbal pada bahan bakar bensin dengan poli aromatik hidrokarbon, maka ancaman paparan benzena akibat penguapan langsung maupun emisi kendaraan bermotor semakin meningkat. Benzena telah diklasifikasikan sebagai penyebab kanker pada manusia grup 1 oleh *International Agency for Research on Cancer (IARC)* karena sifatnya yang karsinogenik. Semakin sering individu berinteraksi dengan senyawa tersebut, semakin tinggi risiko paparannya, salah satunya adalah petugas SPBU. Pada penelitian ini dilakukan deteksi ada atau tidaknya paparan dengan metode *human biomonitoring* terhadap metabolit benzena yaitu asam S-fenil merkapturat yang terdapat pada urin. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography*, kolom C-18, laju alir 1 mL/menit, dan komposisi eluen metanol : asam perklorat 0,001 N (40:60). Nilai kuantitatif yang diperoleh dibandingkan dengan nilai kreatinin pada masing-masing individu. Subjek dari penelitian ini adalah petugas wanita di beberapa SPBU di Jakarta sebanyak 15 orang dan kontrol sebanyak 5 orang. Konsentrasi asam S-fenil merkapturat pada sampel paling tinggi adalah 0,8078 mg/g kreatinin dan paling rendah adalah 0,0795 mg/g kreatinin. Rentang kadar asam S-fenil merkapturat pada kontrol adalah 0,0015 - 0,0582 mg/g kreatinin. Dapat terlihat bahwa paparan benzena pada petugas beberapa stasiun pengisian bahan bakar umum di Jakarta lebih tinggi dibandingkan kontrolnya.

Kata kunci: asam s-fenil merkapturat, benzena, *human biomonitoring*.

xi + 50 hlm.; gbr.; lamp.

Bibliografi: 23 (1950 – 2007)

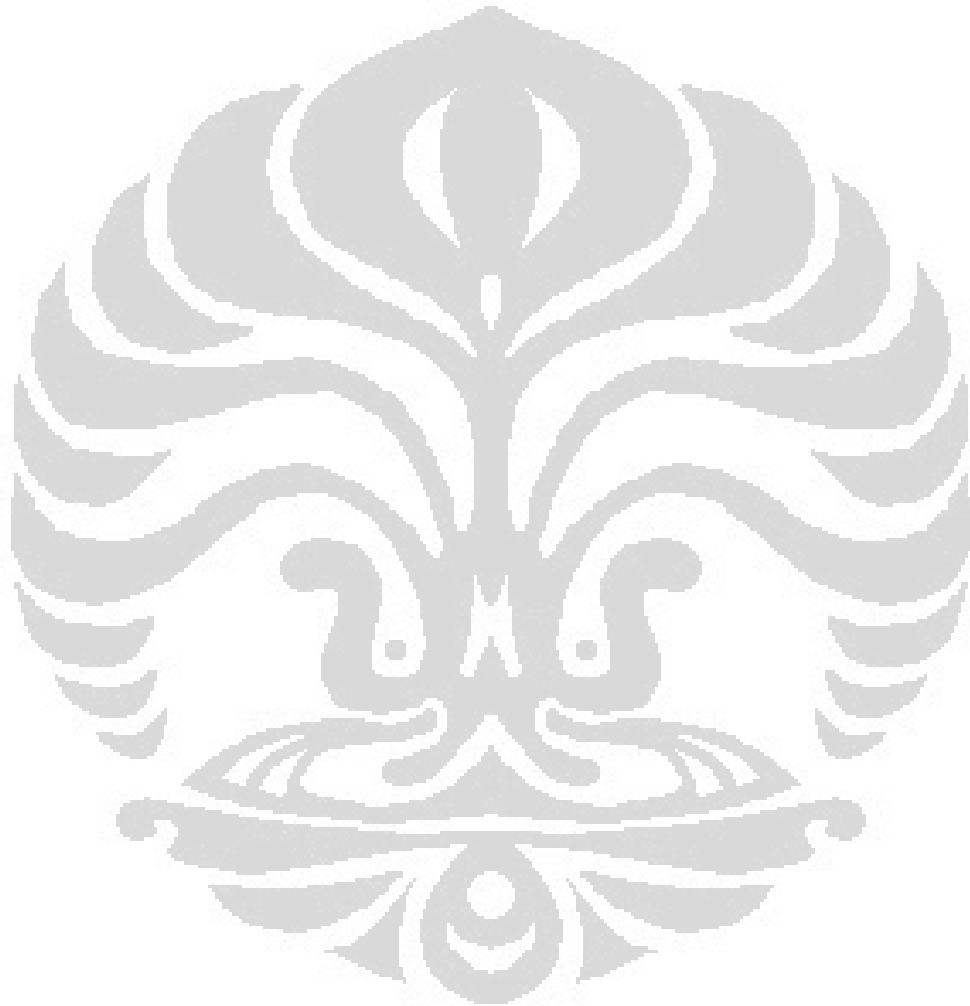


DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Benzena	5
2.1.1 Sifat Fisik dan Sifat Kimia	5
2.1.2 Sumber Benzena di Lingkungan	6
2.1.3 Kegunaan Benzena	6
2.1.4 Toksikokinetika	7
2.1.4.1 Absorpsi	7
2.1.4.2 Distribusi	8

2.1.4.3	Metabolisme	9
2.1.4.4	Ekskresi	11
2.1.5	Efek Benzena Terhadap Kesehatan	12
2.1.5.1	Efek Kronis	12
2.1.5.2	Efek Akut	13
2.1.6	Efek Benzena Terhadap Lingkungan	13
2.1.7	Biomarker dari Benzena	13
2.2	Kreatinin	13
2.3	Penilaian Paparan	15
2.4	Pemantauan di Lingkungan Kerja	15
2.5	<i>Human Biomonitoring</i>	16
BAB III METODE PENELITIAN		17
3.1	Alat dan Bahan	17
3.1.1	Alat yang Digunakan	17
3.1.2	Bahan yang Digunakan	17
3.2	Metode Kerja	18
3.2.1	Pengambilan Sampel	18
3.2.2	Preparasi Reagen	19
3.2.2.1	Preparasi Larutan Standar Kreatinin	19
3.2.2.2	Preparasi Larutan Standar Asam S-fenil Merkapturat	19
3.2.3	Analisis Sampel	19
3.2.3.1	Analisis Kreatinin	19

3.2.3.2 Analisis Asam S-fenil Merkapturat	20
3.3 Diagram Kerja Secara umum	21
3.3.1 Bagan Kerja Kreatinin	21
3.3.2 Bagan Kerja Asam S-fenil Merkapturat	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Pengambilan Sampel	23
4.2 Analisis Kreatinin	25
4.3 Verifikasi metode Asam S-fenil Merkapturat	28
4.3.1 Kondisi Optimum Analisis	28
4.3.2 Kurva Kalibrasi	30
4.3.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi	30
4.3.4 Presisi	31
4.4 Hasil Analisis Asam S-fenil Merkapturat	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	41

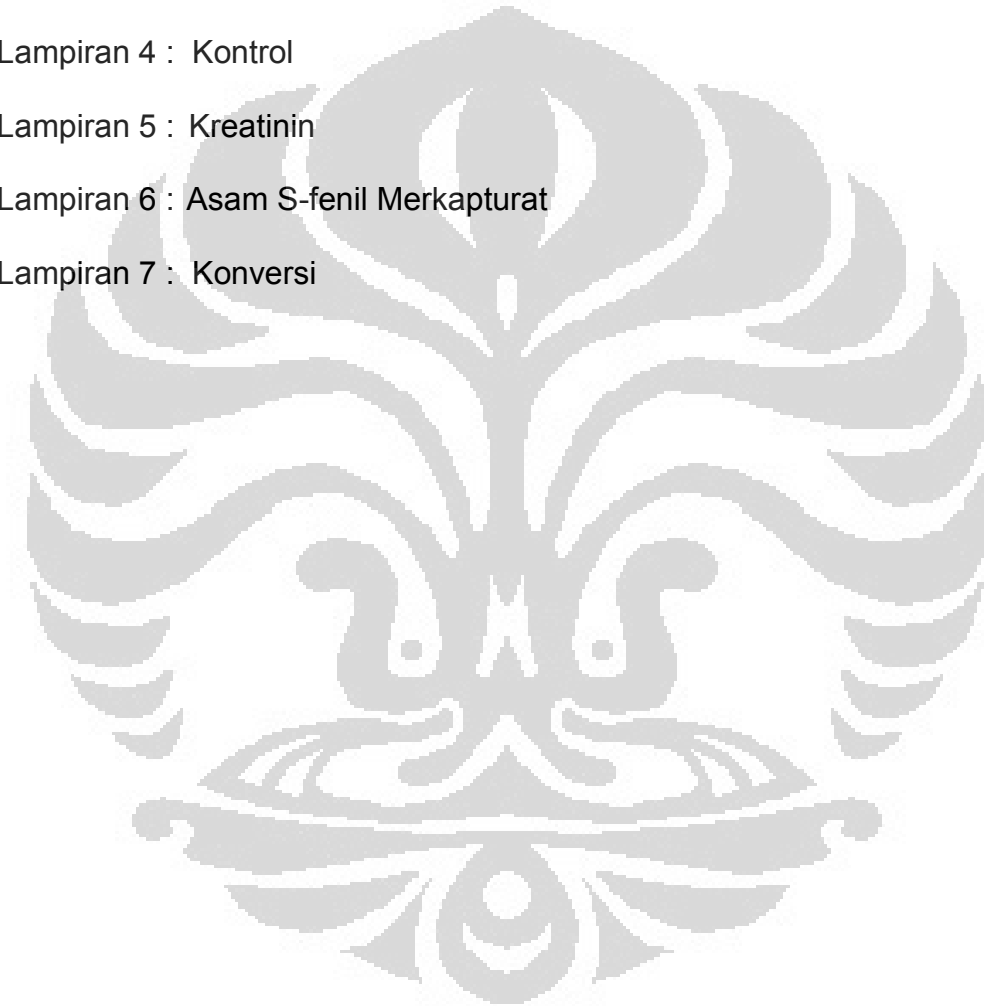


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Benzena	5
Gambar 2.2	Metabolisme Benzena	10
Gambar 2.3	Sintesis Kreatinin	15
Gambar 3.1	Bagan Analisis Kreatinin	21
Gambar 3.2	Bagan Analisis Asam S-fenil Merkapturat	21
Gambar 4.1	Struktur kompleks kreatinin-pikrat	26
Gambar 4.2	Grafik standar kreatinin	27
Gambar 4.3	Kadar kreatinin sampel	27
Gambar 4.4	Kadar kreatinin kontrol	27
Gambar 4.5	Kromatogram standar asam S-fenil merkapturat 1 ppm	28
Gambar 4.6	Kurva kalibrasi standar asam S-fenil merkapturat	30
Gambar 4.7	Struktur molekul asam S-fenil merkapturat	31
Gambar 4.8	Kromatogram standar asam S-fenil merkapturat	33
Gambar 4.9	Kromatogram sampel	33
Gambar 4.10	Kromatogram sampel + standar	33
Gambar 4.11	Kadar asam S-fenil merkapturat sampel	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Lembar Kuisisioner	41
Lampiran 2 : Informed Consent	42
Lampiran 3 : Sampel	44
Lampiran 4 : Kontrol	46
Lampiran 5 : Kreatinin	47
Lampiran 6 : Asam S-fenil Merkapturat	48
Lampiran 7 : Konversi	50



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selama ini sudah banyak studi yang dilakukan tentang kualitas udara di DKI Jakarta serta wilayah lainnya di Indonesia berkaitan dengan beberapa parameter polutan seperti oksida nitrogen (NO_x), sulfur dioksida (SO_2), partikulat halus yang diameternya berukuran kurang dari $10 \mu\text{m}$ (PM_{10}), dan ozon (O_3). Namun, belum banyak studi yang dilakukan di Indonesia terhadap pencemar hidrokarbon¹.

Senyawa hidrokarbon merupakan salah satu komponen yang ada pada bahan bakar minyak, baik sebagai zat alami yang ada maupun sebagai zat aditif (pelarut). Di antara senyawa-senyawa tersebut terdapat benzena yang telah diklasifikasikan sebagai penyebab kanker grup 1 oleh *International Agency for Research on Cancer (IARC)*². Peningkatan potensi pencemaran senyawa ini diperkirakan meningkat sejak adanya kebijakan penghapusan bensin tanpa timbal oleh pemerintah. Akibat kebijakan tersebut, untuk menaikkan nilai oktan pada bensin perlu ditambahkan HOMC (*high octane migas component*)³.

Paparan benzena dapat memberikan efek buruk terhadap kesehatan. Dampak kesehatan akibat paparan benzena dapat berupa depresi pada sistem saraf pusat hingga kematian. Paparan antara 50–150 ppm dapat

menyebabkan sakit kepala, kelesuan, dan perasaan mengantuk. Konsentrasi benzena yang lebih tinggi dapat menyebabkan efek yang lebih parah, termasuk vertigo dan kehilangan kesadaran. Paparan sebesar 20.000 ppm selama 5 – 10 menit bersifat fatal. Dampak yang ringan dapat berupa euforia, sakit kepala, muntah, gaya berjalan terhuyung-huyung, dan pingsan².

Berdasarkan data dari Bapedal dan Lemigas, bahan bakar minyak di DKI Jakarta mengandung benzena (3-14%,v/v), senyawa aromatik lainnya termasuk toluena (26-28%, v/v), dan olefin (3-11%, v/v)⁴. Dengan data tersebut berarti pekerja yang berhubungan dengan bahan bakar minyak dan emisi kendaraan memiliki potensi terpapar, salah satunya adalah petugas SPBU. Pada beberapa penelitian sebelumnya terhadap pekerja SPBU dilaporkan bahwa bahan bakar minyak merupakan sumber potensial paparan di lingkungan kerja⁵.

Pada penelitian ini akan dilihat apakah terdapat indikasi paparan pada pekerja SPBU wanita dengan metode *human biomonitoring*. Metode tersebut dilakukan dengan mengukur metabolit benzena yaitu asam S-fenil merkapturat pada spesimen urin. Pemilihan urin sebagai spesimen uji disebabkan pengambilan sampel urin yang lebih mudah dibandingkan darah dan dapat dikumpulkan dalam jumlah yang besar⁶.

Pengukuran dilakukan pada 15 pekerja SPBU wanita dan 5 kontrol. Pekerja SPBU dipilih dalam penelitian ini karena memiliki resiko paparan yang cukup besar dari emisi buangan maupun dari penguapan pelarut bahan bakar minyak. Kadar asam S-fenil merkapturat yang diperoleh kemudian

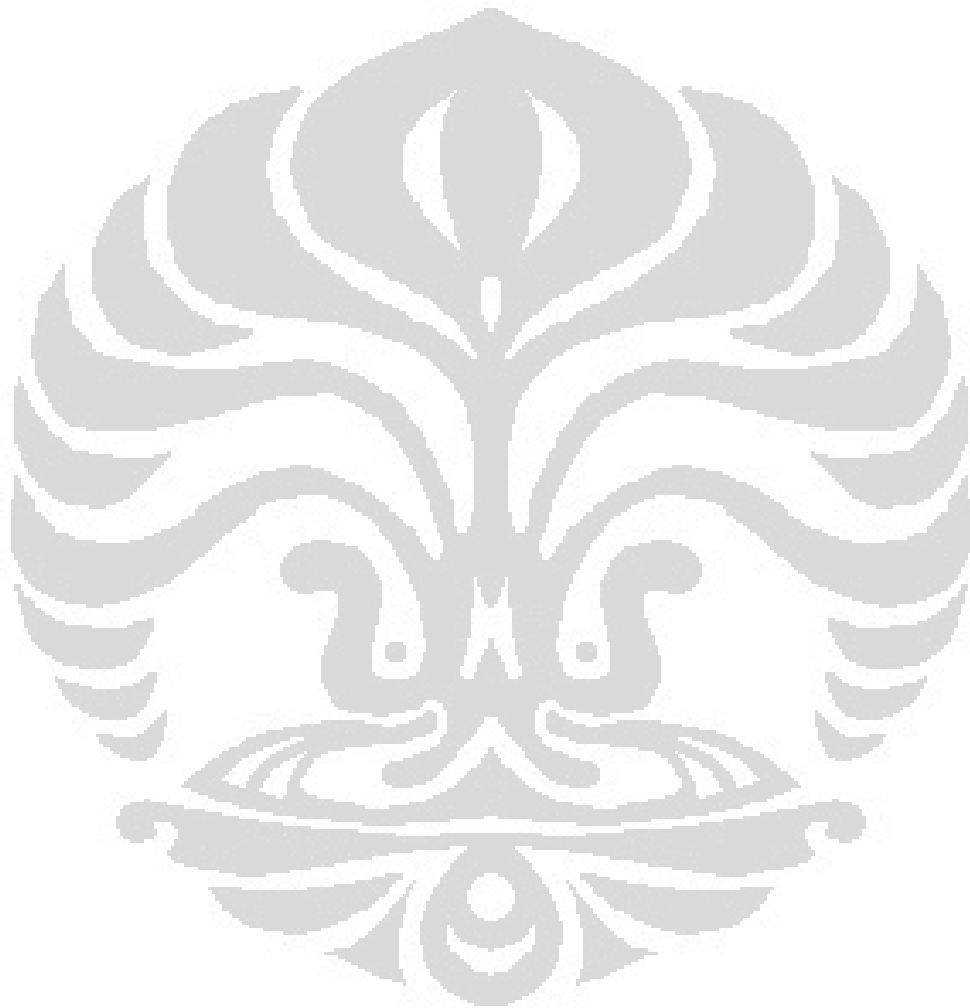
dibandingkan dengan kadar kreatinin pada urin masing-masing sampel (mg/g kreatinin).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi adanya paparan benzena melalui metabolit asam S-fenil merkapturat pada sampel urin petugas SPBU wanita di Jakarta.

1.3 Hipotesis

- Paparan senyawa benzena pada jangka waktu lama dan secara terus menerus akan meningkatkan konsentrasi asam S-fenil merkapturat dalam tubuh.
- Konsentrasi asam S-fenil merkapturat pada petugas SPBU lebih tinggi dibandingkan kontrol.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Benzena

2.1.1 Sifat Fisik dan Sifat Kimia



Gambar 2.1 Struktur Benzena

- Rumus molekul : C₆H₆
- Nama Lain : Benzol
- Berat molekul : 78,11 g/mol
- Nomor CAS : 71-43-2
- Kerapatan : 2,7 (air = 1,0)
- Titik Didih : 80,1°C
- Titik Leleh : 5,5°C
- Titik Nyala : -11,1°C
- Tekanan Uap pada 20°C : 75 mmHg
- Log KoW : 2,13
- Kelarutan dalam air : 1800 mg/L

2.1.2 Sumber Benzena di Lingkungan

Benzena yang terdapat di alam dapat terbentuk secara alami maupun akibat aktivitas manusia. Pembentukan benzena secara alami biasanya berasal dari letusan gunung berapi, rembesan minyak bumi, dan kebakaran hutan. Benzena tersebut dihasilkan dari pembakaran tidak sempurna dari material yang kaya karbon.

Benzena juga merupakan senyawa yang secara alami terkandung dalam minyak mentah, gasoline, dan tembakau rokok. Sumber lainnya adalah hasil buangan industri dan pembakaran batubara. Industri baja dan petrokimia juga merupakan penyumbang benzena yang cukup penting.

2.1.3 Kegunaan Benzena

Penggunaan benzena antara lain sebagai pelarut, material awal maupun intermediet pada sintesis kimia, dan komponen bahan bakar minyak.

Sebelum ditetapkan sebagai penyebab kanker golongan 1, benzena digunakan bebas sebagai pelarut. Akan tetapi sekarang ini telah banyak negara yang melarang penggunaan benzena untuk mengurangi efek karsinogen terhadap manusia⁷.

Beberapa kegunaan benzena dalam produksi :

- Bahan dasar pembuatan sikloheksana sebagai intermediet senyawa sikloheksanon, yang merupakan bahan baku sintesis poliamida

(nylon). Poliamida digunakan pada industri motor, listrik, alat olahraga, dan pengepakan

- Bahan dasar pembuatan kumena. Kumena adalah bahan baku produksi fenol dan propanon (aseton).
- Benzena dapat direaksikan dengan etena menjadi etilbenzena, yang didehidrogenasi menjadi feniletena (stirena).
- Bahan dasar pembuatan nitrobenzena.

2.1.4 Toksikokinetika

2.1.4.1 Absorpsi

Saluran pernafasan atau inhalasi merupakan jalur utama absorpsi benzena, baik pada lingkungan kerja maupun lingkungan sekitar. Pada manusia, absorpsi melalui inhalasi bervariasi antara 70-80% dan kemudian menurun menjadi 50% pada 5 menit pertama⁸. Benzena yang masuk melalui inhalasi akan sampai ke paru-paru dan melalui membran yang ada di alveoli akan masuk ke aliran darah. Uap benzena lebih berat dibandingkan udara, sehingga dapat menyebabkan *asphyxiation* pada tempat yang tertutup dan kurang ventilasi.

Paparan benzena secara ingesti dapat diabsorpsi oleh tubuh, hal ini dibuktikan dengan pengujian pada kelinci yang diberi benzena yang telah diberi label radioaktif pada atom ^{14}C ⁹. Hasilnya, total radioaktivitas yang dikeluarkan lewat nafas dan urin sekitar 90% dari dosis yang diberikan.

Sehingga dapat diperkirakan absorpsi benzena yang terkandung dalam suatu cairan terhadap paparan ingesti hampir mendekati 100%.

Benzena dapat diabsorpsi lewat kulit, hal ini telah dibuktikan secara *in vivo* (dalam manusia) dan *in vitro* (dengan kulit manusia). Perpindahan senyawa ini dari kulit ke darah melalui mekanisme difusi pasif. Interaksi dengan molekul-molekul pada kulit mempengaruhi absorpsi benzena tersebut¹⁰. Tingkat absorpsi benzena cair yaitu 0.4 mg/cm²/jam (pada kondisi tepat larut). Absorpsi dari uap benzena dapat diabaikan. Tidak ada catatan mengenai toksisitas akut yang disebabkan paparan benzena melalui absorpsi kulit.

Jika seorang pekerja terpapar benzena dengan konsentrasi udara *ambient* sebesar 10 ppm, maka perkiraan absorpsi per jamnya adalah 7,5 µL melalui inhalasi, 1,5 µL melalui kulit keseluruhan, dan 7,0 µL melalui kontak kulit langsung. Kontak benzena dengan kulit pada waktu yang lama akan membuat kulit pecah-pecah dan mengelupas¹¹.

2.1.4.2 Distribusi

Karena sifatnya yang lipofil, diduga distribusi benzena yang besar terdapat pada jaringan yang banyak mengandung lemak seperti otak dan lemak. Benzena juga dapat melewati plasenta bayi¹² dan dapat berikatan langsung dengan protein¹³. Benzena juga didistribusikan ke ginjal, paru-paru, hati, dan otak. Metabolit benzena yaitu katekol, hidrokuinon, dan fenol terdeteksi dalam darah dan sum-sum tulang setelah 6 jam terpapar benzena.

Kadar dalam sumsum tulang melebihi kadar dalam darah. Kadar fenol dalam darah dan sumsum tulang menurun drastis setelah paparan berhenti. Hal ini tidak terjadi pada katekol dan hidrokuinon, yang berarti kemungkinan kedua zat ini terakumulasi dalam tubuh lebih besar.

Paparan melalui jalur ingesti terdistribusi ke berbagai organ dan jaringan dalam waktu 1 jam setelah terpapar. Terdeteksi kadar hidrokuinon tertinggi terdapat pada hati, ginjal dan darah; sedangkan untuk fenol terdapat paling banyak pada saluran pernapasan, pencernaan, dan ginjal. Metabolit benzena yang terkonjugasi akan terkumpul di darah, sumsum tulang, saluran pencernaan, ginjal, dan hati.

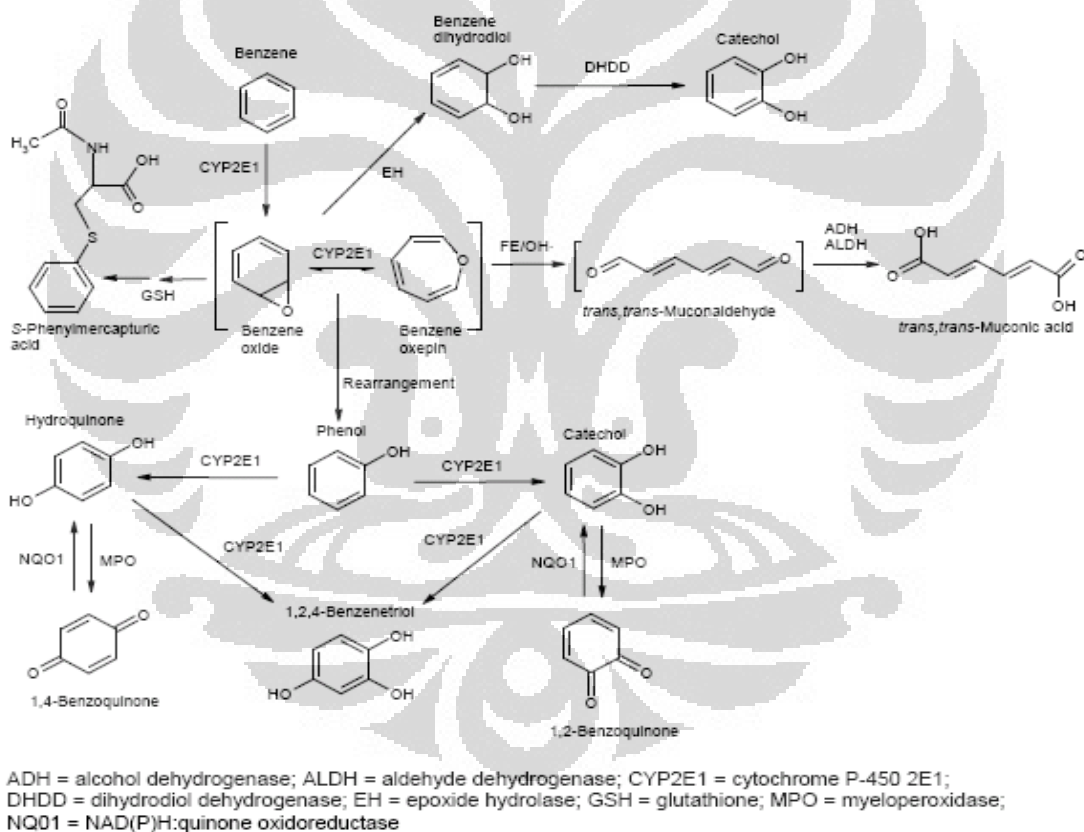
Benzena yang terabsorpsi oleh kulit akan terdistribusi paling banyak ke ginjal, hati, dan kulit.

2.1.4.3 Metabolisme

Metabolisme benzena sebenarnya terjadi di hampir seluruh jaringan, namun tempat penyimpanan metabolit benzena yang utama ialah pada hati. Metabolit yang dihasilkan di hati selanjutnya dibawa ke sumsum tulang.

Dari diagram di bawah dapat dilihat jalur metabolisme benzena. Tiap metabolit fenolik dari benzena (katekol, hidrokuinon, 1,2,4-benzenetriol, dan fenol) dapat mengalami konjugasi sulfonat ataupun glukuronat. Hasil konjugat dari fenol dan hidrokuinon merupakan metabolit yang paling banyak ditemukan di urin.

Asam trans-trans mukonat, fenol, katekol, hidrokuinon, dan benzokuinon dapat merangsang enzim sitokrom p-450 pada sistem sel darah manusia. Enzim ini mengkatalisis reaksi metabolisme benzena pada sumsum tulang, karena itu benzena dapat menyebabkan efek toksisitas pada sel darah (*hematotoxicity*). Benzena dapat menembus plasenta, sehingga bila ibu hamil terpapar benzena maka janinnya dapat juga terkena benzena ataupun senyawa metabolitnya.



Gambar 2.2 Metabolisme Benzena

2.1.4.4 Ekskresi

Jalur ekskresi benzena yang tidak dimetabolisme ialah melalui pernapasan. Kecepatan ekskresinya paling besar selama satu jam pertama sejak terpapar. Benzena yang telah mengalami metabolisme akan dikeluarkan melalui urin dalam bentuk fenol, asam mukonat, dan asam S-fenil merkapturat. Hanya sebagian kecil benzena yang ikut dalam metabolisme diekskresikan lewat feses.

Berdasarkan studi yang dilakukan pada manusia, 1,4 – 41,6% dari benzena yang ditahan dalam tubuh (*retained benzene*) dieliminasi 5-7 jam setelah paparan, melalui paru-paru dan diekskresikan dalam urin⁸. Jika terpapar 63-405 mg/m³ selama 1-5 jam, maka 51-87% akan diekskresikan melalui urin sebagai fenol setelah 23-50 jam¹⁴. Sebanyak 30% benzena yang diabsorpsi melalui kulit akan diekskresikan melalui urin sebagai fenol¹⁵. Belum terdapat penelitian mengenai paparan benzena terhadap manusia akibat paparan secara ingesti⁶.

Percobaan yang dilakukan terhadap kelinci dengan memberi dosis paparan 340-500 mg/kg berat badan selama 2-3 hari diperoleh data 43% akan dieliminasi melalui udara pernafasan, 23,5% diekskresi sebagai fenol, 4,8% sebagai quinol, dan 2,2% sebagai katekol serta senyawa fenolik lain¹⁶.

Hasil ekskresi benzena dapat digunakan untuk mengetahui indikasi paparannya. Untuk menganalisis kadar benzena yang diekskresikan lewat urin atau feses dapat menggunakan GC dengan ITD (*Ion Trap Detector*) atau

FID (*Flame Ionization Detector*)/ MS (*Mass Spectrometry*) dan HPLC /UV untuk urin. Untuk analisis benzena dalam darah atau ASI dapat menggunakan HRGC (*High Resolution Gas Chromatography*).

2.1.5 Efek Benzena Terhadap Kesehatan

2.1.5.1 Efek Kronis

- Paparan inhalasi Benzena dengan kadar tertentu dapat menyebabkan kerusakan pada sel darah manusia. Benzena secara spesifik mempengaruhi sumsum tulang belakang (jaringan yang menghasilkan sel darah) sehingga dapat menyebabkan anemia aplastik, pendarahan akut, dan kerusakan sel imun.
- Benzena dapat menyebabkan abrasi kromosomal (baik struktur maupun jumlah) pada manusia.
- Paparan melalui inhalasi dan ingesti pada hewan menghasilkan efek yang sama seperti manusia, serta disfungsi sistem imun dengan efek awal berupa lymphocytopenia.
- Paparan dengan kadar tinggi dapat mengganggu kesuburan pada wanita karena dapat menurunkan produksi sel telur, juga mengganggu periode menstruasi.
- Pada hewan, paparan tersebut dapat menurunkan tingkat kelahiran, menghambat pembentukan tulang, dan merusak sumsum tulang belakang.

2.1.5.2 Efek Akut

Paparan melalui inhalasi dengan kadar yang sangat tinggi dapat menyebabkan kematian. Kadar yang cukup tinggi bahkan dapat menyebabkan gejala neurologik seperti timbul rasa kantuk, pusing, tremor, sakit kepala, pingsan, dan detak jantung tidak stabil.

Paparan melalui ingesti dapat menyebabkan mual, iritasi perut, pusing, kantuk, tremor, detak jantung tidak stabil, bahkan kematian.

Kontak terhadap cairan dan uap benzena dapat menyebabkan iritasi kulit, mata, dan saluran pernafasan atas. Paparan melalui kulit dapat menyebabkan bercak-bercak merah.

Pada hewan, paparan secara inhalasi dan oral, dapat menyebabkan efek neurologik, hematologik, dan imunologik.

2.1.6 *Biomarker* dari Benzena

Di dalam tubuh, benzena dimetabolisme menjadi beberapa metabolitnya. Tiga di antaranya diekskresikan melalui urin, yaitu fenol, asam trans-trans mukonat, dan asam S- fenil merkapturat.

2.2 Kreatinin

Kreatinin merupakan sisa bahan kimia yang dibentuk dari pemecahan kreatin, yaitu suatu molekul yang memproduksi energi dalam

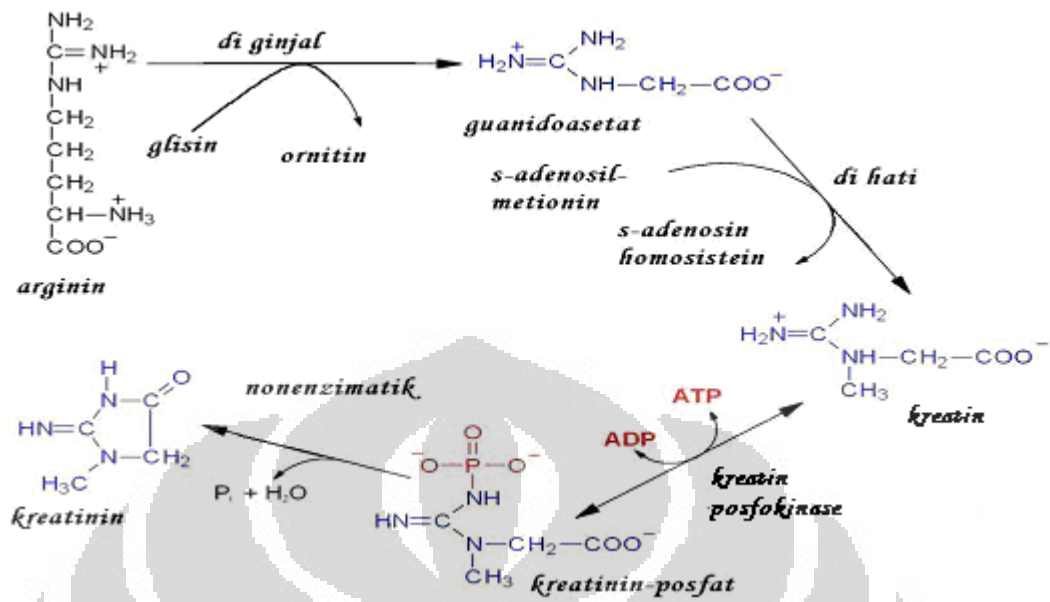
otot. Kreatin dipecah setiap harinya. Hasil pecahan berupa kreatinin tersebut dibawa oleh aliran darah menuju ginjal dan dikeluarkan melalui urin.

Sintesis kreatin diawali dengan pembentukan guanidinoasetat pada ginjal dari arigin dan dari glisin dengan bantuan enzim L-arginin glisin aminido transferase (AGAT). Di dalam hati, guanidinoasetat tadi akan menjalani proses pembentukan kreatin akibat penambahan satu gugus metil dari S-adenosil-L metionin dengan katalis enzim S-adenosil-L metionin N-guanidinoasetat metil transferase (GAMT). Dengan bantuan *creatine transporter*, kreatin tersebut masuk ke dalam jaringan.

Sebagian kreatin akan mengalami degradasi menjadi kreatinin yang nantinya akan diekskresikan oleh ginjal. Dalam urin rata-rata kreatinin yang dihasilkan oleh pria 1,0-2,0 gram dan 0,8-1,8 gram untuk wanita. Standar kreatinin yang diperbolehkan untuk ginjal normal adalah 0,3-3,0 gram/hari.

Sekitar 90% kreatin dalam tubuh disimpan di otot, 40% diantaranya dalam bentuk bebas dan sisanya dalam bentuk kreatin fosfat. Apabila otot memerlukan energi siap pakai dalam waktu cepat, maka kreatin fosfat akan mengalami defosforisasi menjadi kreatin, dan menyumbangkan fosfat untuk membentuk ATP. Sebagian kreatin akan kembali menjadi kreatin fosfat dan sebagian membentuk kreatinin.

Jumlah kreatinin pada setiap individu adalah konstan. Tidak dipengaruhi oleh banyaknya air minum, pola kerja, pola makan, dan volume urin. Oleh karena itu, pada *human biomonitoring* yang menggunakan sampel urin, digunakan kadar kreatinin sebagai pembanding.



Gambar 2.3 Sintesis Kreatinin

2.3 Penilaian Paparan (*exposure assessment*)

Paparan adalah suatu kontak bahan asing (xenobiotik) terhadap tubuh atau organ sasaran makhluk hidup, yang memiliki intensitas dan besaran yang dapat diukur (konsentrasi). Sebelum zat tersebut sampai ke organ sasaran, disebut konsentrasi, setelah sampai sasaran disebut dosis.

2.4 Pemantauan di Lingkungan Kerja

Salah satu pengkajian kriteria kuantitatif suatu paparan dengan maksud menilai akseptibilitas tingkat paparan zat toksik yang terukur di tempat kerja adalah dengan menentukan nilai ambang batas. Untuk tujuan tersebut, telah terdapat beberapa lembaga yang mengaturnya, antara lain:

- *American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)*

- *Nasional Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)*
- *Occupational Safety and Health Administration (OSHA)*

Beberapa batas paparan benzena

- OSHA PEL (*Permissible Exposure Limit*) : 1 ppm
- OSHA STEL (*Short-term Exposure Limit*) : 5 ppm
- NIOSH REL (*Recommended Exposure Limit*) : 0,1 ppm
- ACGIH TLV-TWA (*Threshold Limit Value-Time Weighted Average*) : 10 ppm
- ACGIH BEI (*Biological Exposure Index*) SPMA: 25 µg/gr Kreatinin

2.5 Human Biomonitoring

Human Biomonitoring merupakan suatu cara untuk mempelajari tentang perilaku dan pengukuran bahan –bahan beracun (xenobiotika) yang masuk ke dalam tubuh, dengan menggunakan suatu indikator yang disebut biomarker.

Human Biomonitoring ini penting dilakukan karena manusia dengan mudah dapat terpapar bahan kimia berbahaya -baik disadari ataupun tidak- melalui makanan, udara, dan kontak kulit dengan sumber paparan. Yang digunakan dalam *human biomonitoring* ini selalu melibatkan jaringan tubuh yang berkemungkinan mengandung xenobiotik atau derivatnya yang berupa urin, darah, rambut, dan lainnya tergantung pada zat yang diteliti.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat yang digunakan

Instrument yang digunakan ada 2 jenis, yaitu spektrofotometer UV-Visibel untuk mengukur kadar kreatinin, dan HPLC- detector UV (shimadzu LC-20A) untuk mengukur kadar asam S-fenil merkapturat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, botol polyetilen untuk menampung sampel urin, pipet mikro, penangas air, *ice box*, *vortex*, sentrifugator, *degasser*, pH meter, dan neraca analitik, *syringe*, dan kolom C-18.

3.1.2 Bahan yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah standar asam S-fenil merkapturat, standar kreatinin, natrium hidroksida 0,1 N, Kalium hidroksida 9,8 N, asam pikrat jenuh, asam klorida 17,8 N, etil asetat p.a, metanol HPLC *grade*, Asam perklorat 0,001 N, akuades dan akuabides.

3.2 Metode Kerja

3.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel urin didapatkan dari sekelompok individu yang berisiko terpapar benzena, yaitu pekerja SPBU yang bertugas mengoperasikan mesin pengisian bahan bakar di wilayah DKI Jakarta sebanyak 15 orang. Selain itu diambil juga urin masyarakat yang bertempat tinggal di Gunung Putri, Bogor sebagai kontrol.

Sebelum dilakukan pengambilan sampel, individu yang akan dijadikan objek diberikan *informed consent* terlebih dahulu untuk meminta persetujuan. Selanjutnya untuk mengetahui latar belakang serta faktor-faktor yang terkait pada individu, maka dilakukan survei dengan cara memberikan beberapa pertanyaan dalam bentuk angket. Pertanyaan angket meliputi identitas diri, riwayat kesehatan, riwayat makanan, riwayat pekerjaan, dan aktivitas merokok.

Sampel urin dikumpulkan dalam wadah Botol polyethylene 500 mL yang bersih dan diberi pengawet HCl 6 M, pH 2, ditransportasikan ke laboratorium dan disimpan pada suhu 4°C.

3.2.2 Preparasi Reagen

3.2.2.1 Preparasi Larutan Standar Kreatinin

Pembuatan larutan induk untuk standar kreatinin adalah dengan melarutkan 0,5 mg kreatinin dalam 10 ml HCl 0,1 M, kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas dengan HCl 0,1 M. Dari larutan induk ini kemudian dibuat larutan standar kreatinin dengan variasi konsentrasi 0,1; 0,5; 1; 2; dan 4 mg/L dengan cara pengenceran.

3.2.2.2 Preparasi Larutan Standar S-fenil Merkapturat

Larutan induk untuk standar asam S-fenil merkapturat dibuat dengan melarutkan 100 mg asam S-fenil merkapturat dalam 10 mL metanol, kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas dengan akuades. Dari larutan induk ini kemudian dibuat larutan standar asam S-fenil merkapturat dengan variasi konsentrasi 1, 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm.

3.2.3 Analisis Sampel

3.2.3.1 Analisis Kreatinin

Metode yang digunakan pada analisis kreatinin ini adalah *de Jaffe*. Yaitu analisis yang dilakukan berdasarkan perubahan warna kompleks kreatinin-pikrat yang berwarna kuning. Batas normal yang ditetapkan oleh WHO, untuk jumlah kreatinin tiap individu yaitu 0,3 g sampai 3 g. (WHO)

Sampel urin yang akan dianalisis disentrifugasi terlebih dahulu untuk dihilangkan sedimennya. Sebanyak 1 mL NaOH 1 M dicampurkan dengan 0,5 mL asam pikrat jenuh menjadi campuran pikrat alkali dalam labu ukur 25 mL. Ke dalam labu tersebut dimasukkan sampel urin sebanyak 0,1 mL, didiamkan selama 10 menit, kemudian diencerkan sampai tanda batas dan dihomogenkan. Larutan siap diukur absorbansinya dengan Spektrometer UV-Vis pada panjang gelombang 486 nm. Perlakuan ini diterapkan pada sampel, standar kreatinin dan blanko.

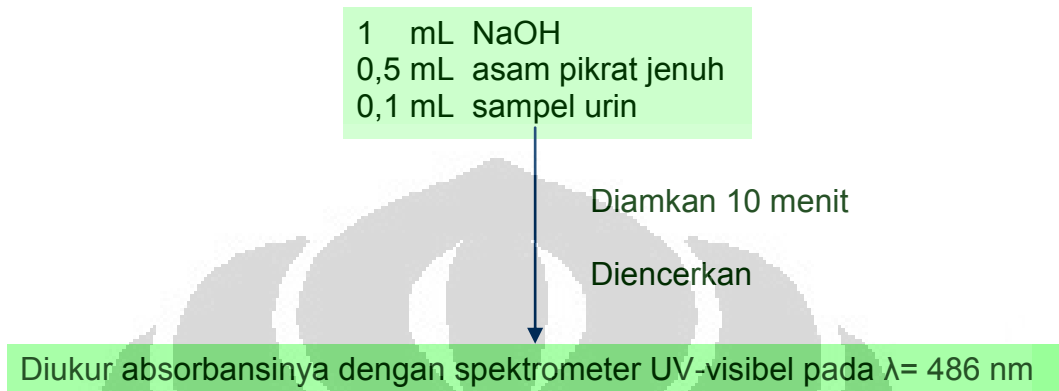
3.2.3.2 Analisis Asam S-fenil merkapturat

Sampel urin yang telah disentrifugasi diambil 4 mL kemudian ditambahkan 0,6 mL akuades, dan 0,2 mL H₂SO₄ 17,2 N. Setelah didiamkan selama 10 menit, ditambahkan dengan KOH 9,8N (sampai pH=1). Campuran diekstraksi 2 kali, masing-masing dengan 3 mL etil asetat. Akan didapat 2 lapisan, memindahkan lapisan organiknya ke tabung lain dan keringkan dalam penangas. Sebelum diukur, residu dilarutkan dengan 0,5 mL eluennya.

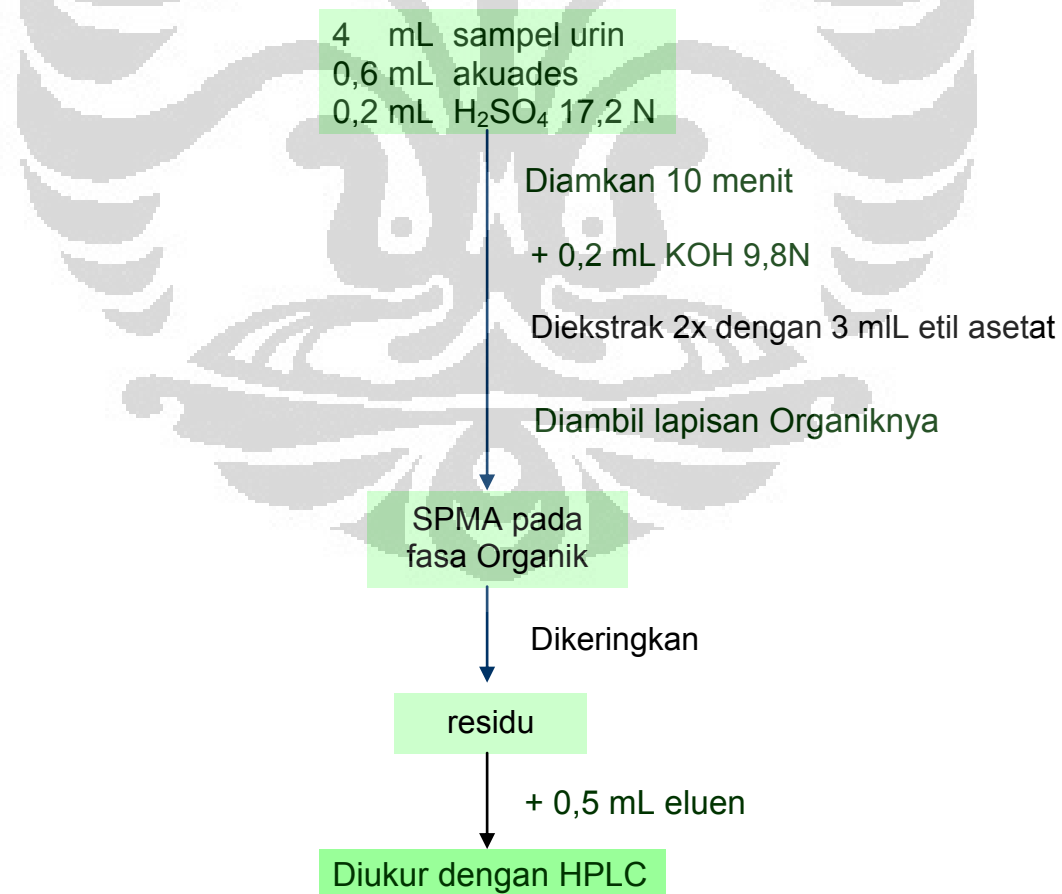
Pengukuran dilakukan dengan alat High Performance Liquid Chromatography (HPLC) dengan fase gerak yang digunakan adalah metanol:asam perklorat 0,001 N dengan perbandingan 40:60. Laju alir 1 mL/menit. Panjang gelombang 205 nm.

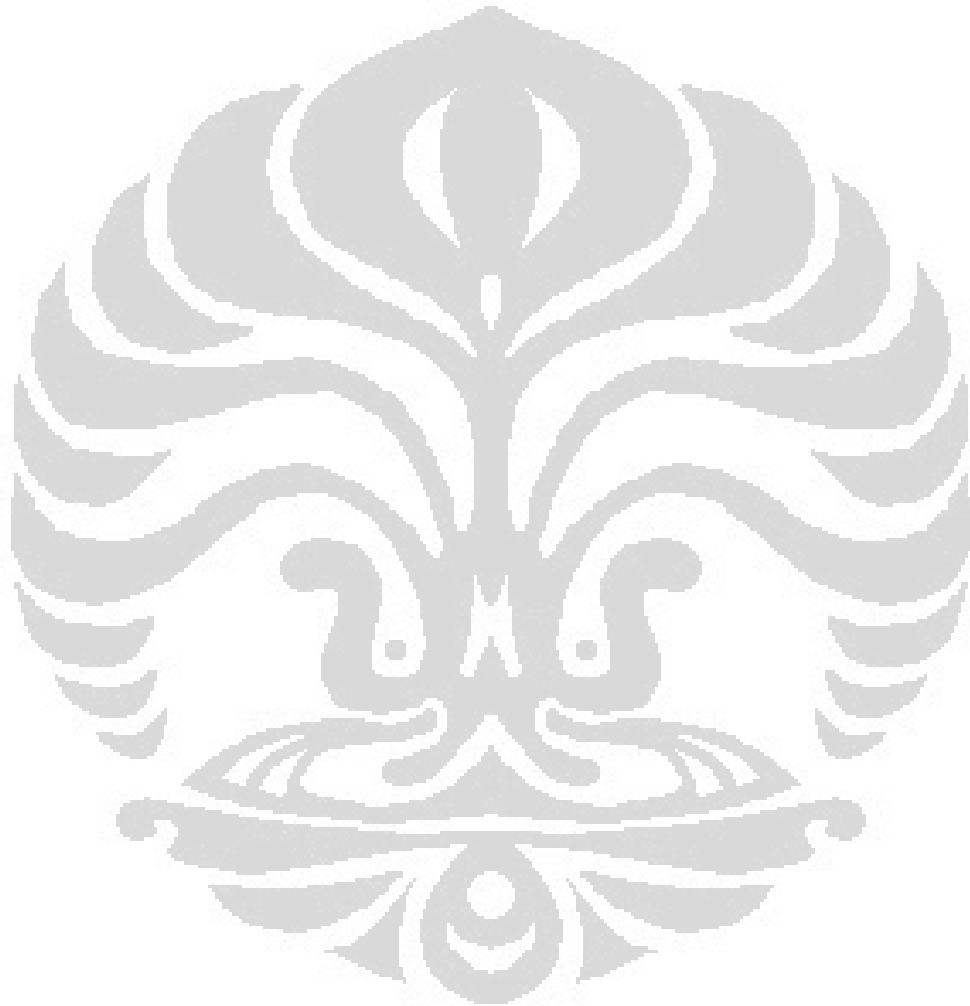
3.3 Bagan Umum Penelitian

3.3.1 Bagan Analisis Kreatinin



3.3.2 Bagan Analisis Asam S-fenil merkapturat





BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini dipilih pekerja SPBU wanita karena terdapat beberapa efek yang ditimbulkan oleh paparan benzena khususnya pada wanita antara lain mengganggu kesuburan, menurunkan produksi telur, dan mengganggu periode menstruasi. Mereka jarang sekali menggunakan alat pelindung diri seperti masker dan sarung tangan, dengan demikian dapat diasumsikan dosis paparan benzena yang diterima dari emisi kendaraan maupun bahan bakar itu sendiri cukup besar.

Sampel diperoleh dari SPBU di wilayah DKI Jakarta. Pemilihan lokasi didasari pada keramaian konsumen SPBU tersebut, dengan asumsi uap dari bahan bakar lebih sering terhirup oleh petugas.

Berikut adalah SPBU yang dijadikan titik sampling :

1. SPBU 34-10701 Jl. Salemba
2. SPBU 34-10401 Jl. Gunung Sahari
3. SPBU 31-12902 Jl. Rasuna Said
4. SPBU 34-13419 Jl. Inspeksi Kalimantan
5. SPB U 34-14208 Jl. Boulevard- Kelapa Gading

Pekerja SPBU yang dipilih sebagai subjek penelitian ini memiliki kriteria sebagai berikut :

1. Jenis kelamin perempuan
2. Usia 19-30 tahun
3. Lama bekerja 8-24 bulan
4. Tidak merokok

Sehingga didapatkan data yang lebih homogen.

Dari kegiatan *sampling* diperoleh 15 sampel. Urin yang dikumpulkan hanya dari 1 kali ekskresi pada pukul 13.00-15.00 saat berakhirnya shift kerja. Sesuai dengan pedoman pengambilan sampel untuk *monitoring* paparan benzena.

Sebagai kontrol digunakan 5 subjek yang memiliki risiko relatif rendah terhadap paparan benzena. Kriteria kontrol sama dengan sampel, kecuali jenis pekerjaan mereka. Kontrol digunakan untuk membandingkan apakah benar terdapat indikasi paparan benzena melalui pengukuran kadar asam S-fenil merkapturat pada komunitas sampel.

Sampel urin kemudian ditempatkan dalam botol polyetilen dan ditranspotasikan ke laboratorium menggunakan *ice box*. Pada setiap sampel ditambahkan HCL 6,0 M sebagai pengawet. Sampel disimpan pada suhu 4°C. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar kreatinin dan asam S-fenil merkapturat pada masing-masing urin.

Dari keseluruhan sampel diperoleh data 10 orang bekerja antara 7-12 bulan, 2 orang bekerja antara 13-18 bulan, dan 3 orang telah bekerja selama 24 bulan.

Total jam kerja petugas SPBU dalam 1 minggu berbeda-beda. Bergantung pada peraturan dalam SPBU tersebut. Rata-rata antara 42 sampai 48 jam dengan pembagian 7 jam per hari/ 6 hari perminggu atau 8 jam per hari/6 hari perminggu. Data selengkapnya dapat dilihat di lampiran 3.

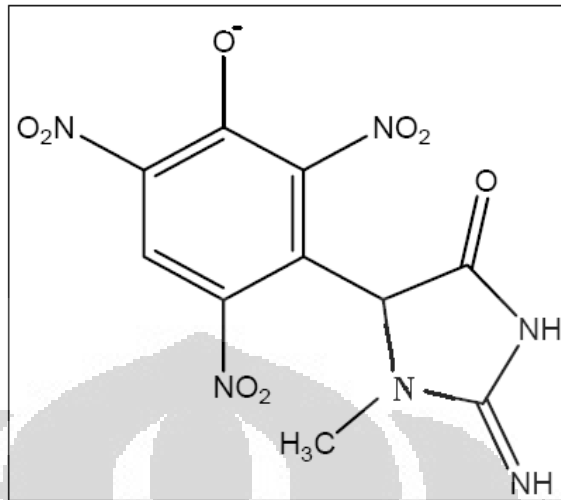
4.2 Analisis Kreatinin

Konsentrasi metabolit yang diukur pada spesimen urin bergantung pada laju ekskresinya. Perbedaan laju ekskresi tersebut dapat menyebabkan kepekatan urin setiap kali ekskresi juga berbeda. Hal ini dapat menimbulkan kesalahan dalam menginterpretasi data yang diperoleh. Oleh sebab itu, sebagai koreksi hasil pengukuran metabolit digunakan nilai kreatinin.

Kreatinin yang dihasilkan tiap individu adalah konstan. Tidak dipengaruhi oleh banyaknya air yang diminum, volume urin yang diekskresi dan pola kerja. Sehingga kreatinin digunakan sebagai standar acuan internasional untuk analisis yang menggunakan spesimen urin.

Kadar kreatinin normal pada manusia sehat adalah 0,3 – 3,0 mg/mL. Apabila nilai yang didapat di atas batas tersebut, maka diduga terdapat gangguan metabolisme pada individu tersebut.

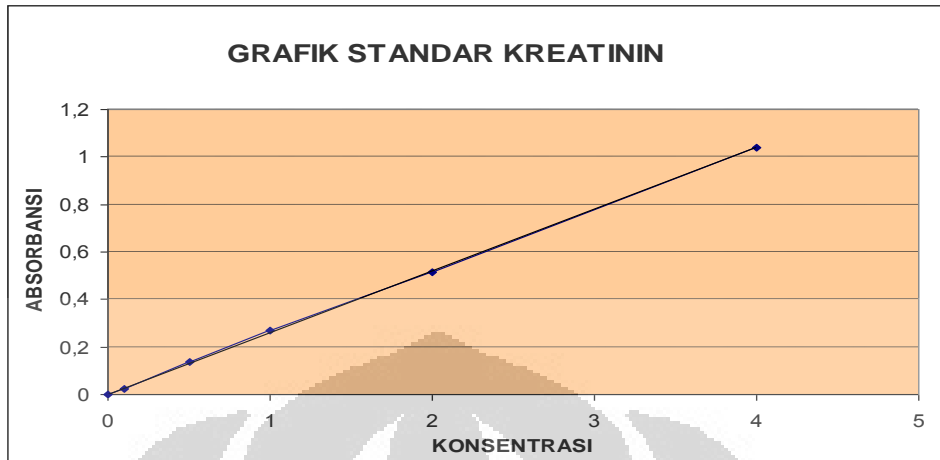
Pengukuran kreatinin pada spesimen urin dilakukan menggunakan spektrofometer UV-Visibel pada panjang gelombang 486 nm. Metode yang digunakan adalah dengan mereaksikan sampel dengan pikrat alkali membentuk kompleks kreatinin-pikrat dengan warna kuning muda hingga jingga pekat.



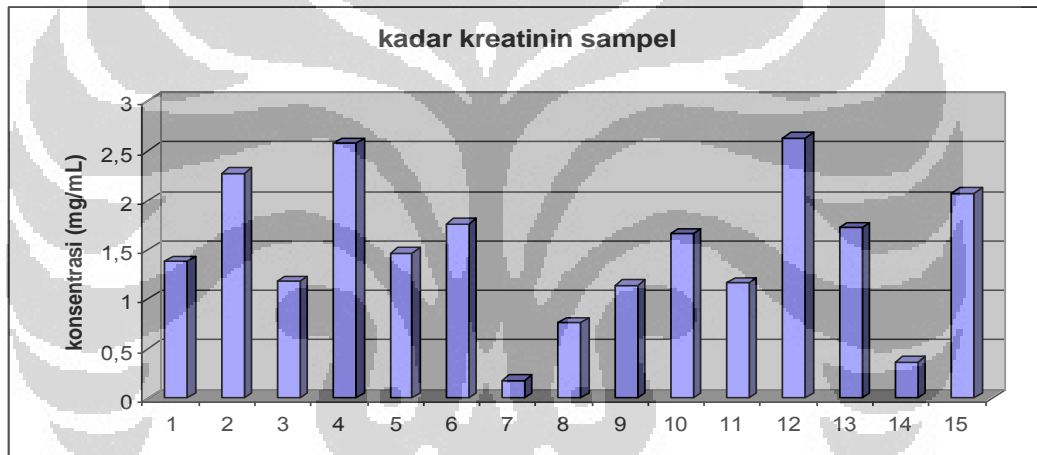
Gambar 4.1 Struktur kompleks kreatinin-pikrat

Dari hasil analisis kreatinin yang dilakukan untuk variasi konsentrasi standar 0,1; 0,5; 1; 2; dan 4 mg/L diperoleh persamaan $y = 0,2591x + 0,0023$. Dengan harga $r^2 = 0,9998$. Nilai absorbansi sampel dan kontrol yang diperoleh kemudian dikalibrasi dengan persamaan tersebut untuk mendapatkan kadar kreatininnya.

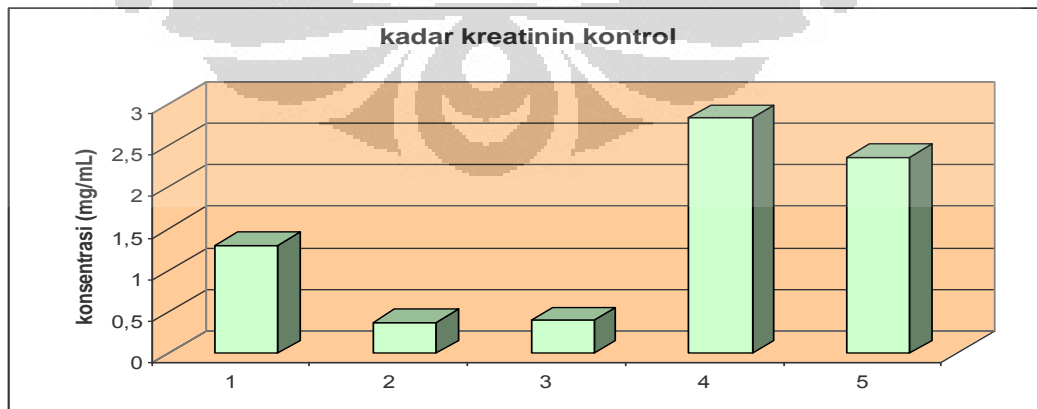
Nilai kreatinin tertinggi yang diperoleh dari pengukuran pada sampel adalah 2,6288 mg/mL. Maka tidak terdapat subjek yang memiliki nilai pengukuran di atas batas normal pada pengukuran sampel maupun kontrol. Ini menunjukkan kerja metabolisme pada subyek bekerja dengan baik.



Gambar 4.2 Grafik Standar Kreatinin



Gambar 4.3 Kadar kreatinin sampel

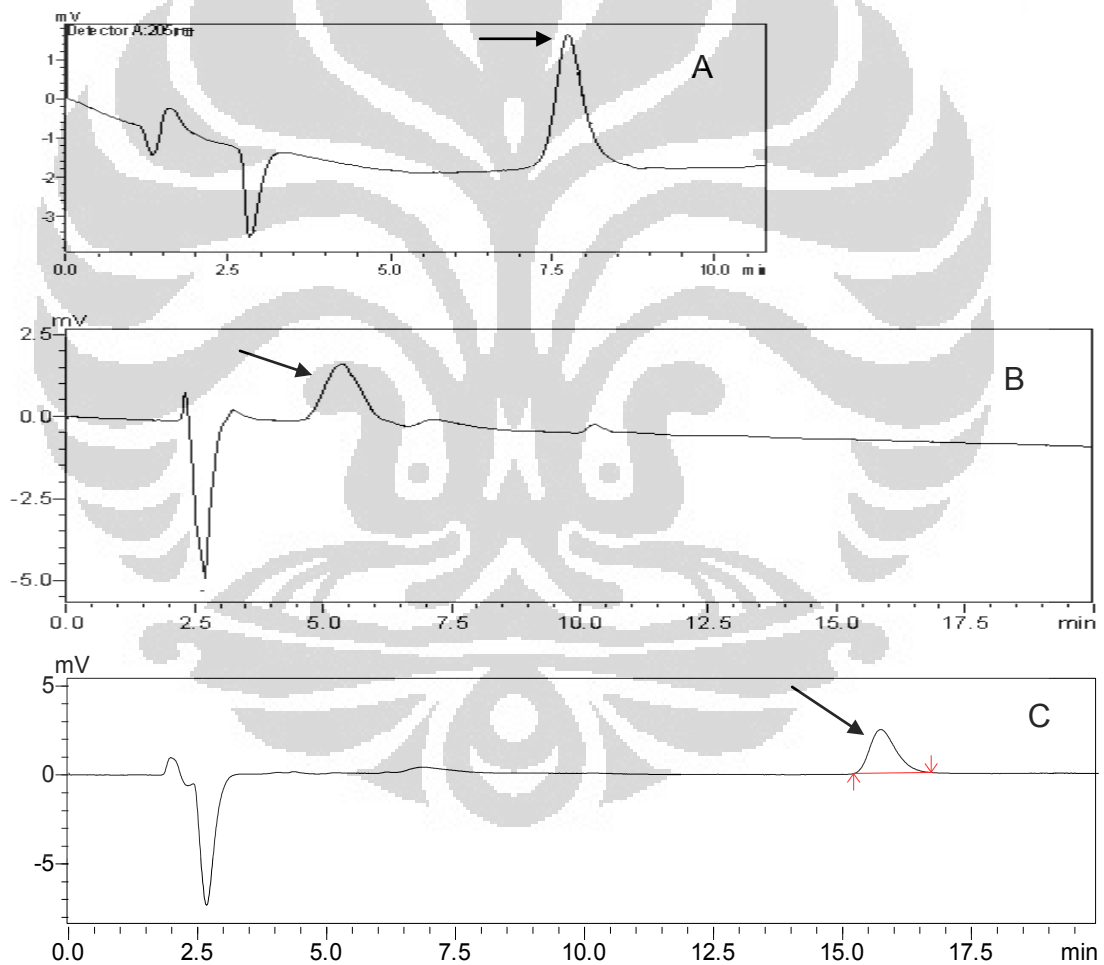


Gambar 4.4 Kadar kreatinin kontrol

4.3 Verifikasi Metode Analisis Asam S-fenil Merkapturat

4.3.1 Kondisi Optimum Analisis

Pencarian kondisi optimum analisis asam S-fenil merkapturat dimulai dengan menentukan eluen yang digunakan. Pengukuran dilakukan pada 3 jenis eluen, yaitu metanol : asam perklorat; metanol : buffer posfat; dan metanol : akuabides.



Gambar 4.5 Kromatogram standar asam S-fenil merkapturat 1 ppm

A) met : air; B) met : buffer; C) met : asam

Dari kromatogram di atas dapat dilihat bahwa puncak yang paling baik didapat pada eluen metanol : asam perklorat. Kromatogram memiliki *baseline* yang lurus dan puncak pengganggu relatif lebih sedikit. Maka pada pengukuran selanjutnya digunakan eluen metanol : asam perklorat.

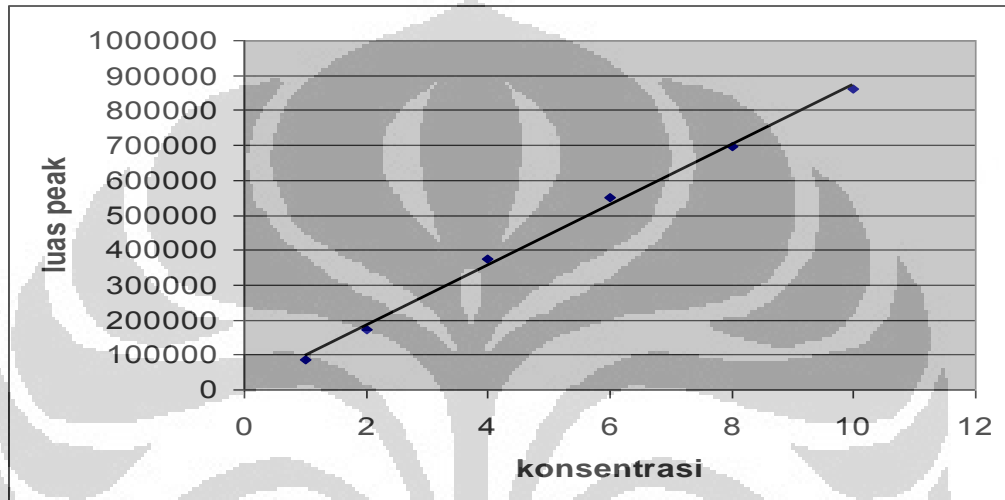
Selanjutnya dicari rasio optimum dari eluen yang sudah didapatkan sebelumnya. Pengukuran dilakukan pada beberapa rasio, antara lain 50 :50; 40 : 60; dan 30 : 70. Dari hasil kromatogram yang didapat, dipilih rasio 40 : 60. Hal tersebut didasari pada waktu retensi yang dihasilkan yaitu sekitar 16,8 menit. Pada rasio tersebut pengotor yang ada pada sampel telah keluar pada menit – menit awal, sehingga tidak mengganggu puncak asam S-fenil merkapturat.

Dari pencarian kondisi optimum untuk analisis asam S-fenil merkapturat diperoleh hasil sebagai berikut :

Kolom	: LichroCART ® (MERCK) RP-18
Pompa	: Shimadzu LC-6A, isokratik
Detektor	: UV-Visible (SPD 20-A)
Panjang Gelombang	: 205 nm
Fase gerak	: metanol : asam perklorat
Rasio	: 40 : 60
Laju alir	: 1 mL/menit
Volume injeksi	: 20 µL
Waktu retensi	: 16,8 menit

4.3.2 Kurva Kalibrasi

Dari hasil kalibrasi standar asam S-fenil merkapturat yang dilakukan untuk variasi konsentrasi 1; 2; 4; 6; 8; dan 10 pm didapat persamaan garis $y = 86284x + 11622$. Dengan nilai $R^2 = 0,9971$.



Gambar 4.6 Kurva kalibrasi standar asam S-fenil merkapturat

4.3.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

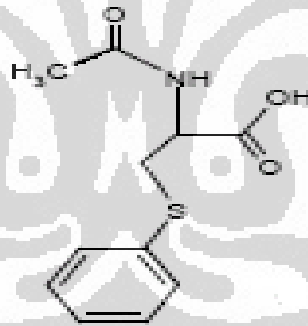
Batas deteksi dari asam S-fenil merkapturat oleh instrumen yang digunakan adalah 0,0044 ppm, yang jika dikonversikan menjadi jumlah residu asam S-fenil merkapturat dalam 500 μ L larutan sampel maka nilainya setara dengan 2,20 ng asam S-fenil merkapturat. Batas kuantitas asam S-fenil merkapturat adalah 0,0145 ppm, yang setara dengan 7,25 ng asam S-fenil merkapturat dalam sampel. Data selengkapnya terdapat pada Lampiran 6.

4.3.4 Presisi

Hasil presisi untuk 3 konsentrasi standar asam S-fenil merkapturat yang berbeda dengan 6 kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi memberikan nilai koefisien variasi kurang dari 2 %. Hal ini menunjukkan kerja alat masih baik untuk digunakan dalam pengukuran. Data selengkapnya dapat dilihat di Lampiran 6.

4.4 Hasil Analisis Asam S-fenil Merkapturat

Asam S-fenil merkapturat adalah salah satu metabolit benzena yang bersifat polar, sehingga diekskresikan melalui urin. Kestabilan zat ini cukup baik. Memiliki titik didih 110 - 112°C.



Gambar 4.7 Struktur molekul asam S-fenil merkapturat

Analisis asam S-fenil merkapturat dilakukan dengan menggunakan instrumentasi HPLC (*high performance liquid chromatography*) dengan kondisi yang telah dicari optimasinya terlebih dahulu.

Pada tahap awal pengukuran seluruh sampel urin disentrifugasi terlebih dahulu untuk menghilangkan sedimennya. Kemudian menambahkan

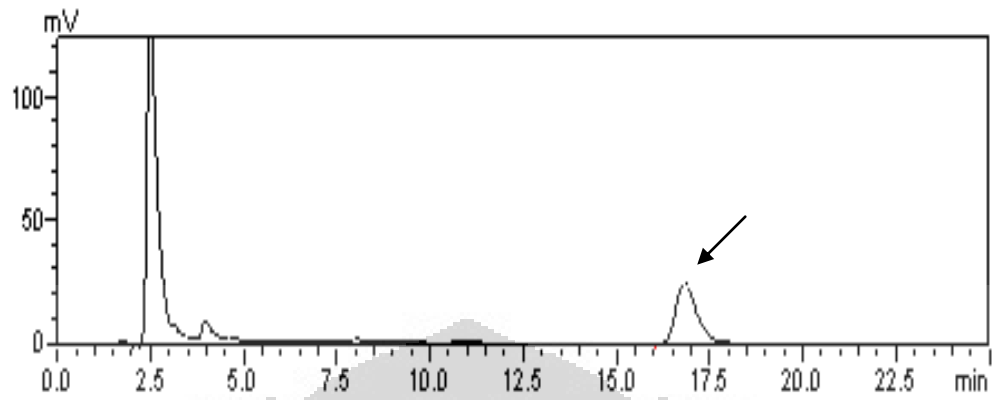
H₂SO₄ 17,2 N dan akuades untuk mengubah pre-asam S-fenil merkapturat menjadi asam S-fenil merkapturat. Setelah diinkubasi selama 10 menit, ke dalam sampel ditambahkan KOH 9,8 N untuk mengembalikan pH campuran menjadi 1.

Sampel kemudian diekstrak dengan etil asetat. Asam S-fenil merkapturat akan tertarik pada fasa organiknya. Setelah dipisahkan, fasa organik diuapkan dalam penangas air hingga kering. Residu kemudian dilarutkan dengan 0,5 mL eluen dan dianalisis menggunakan HPLC dengan panjang gelombang 205 nm.

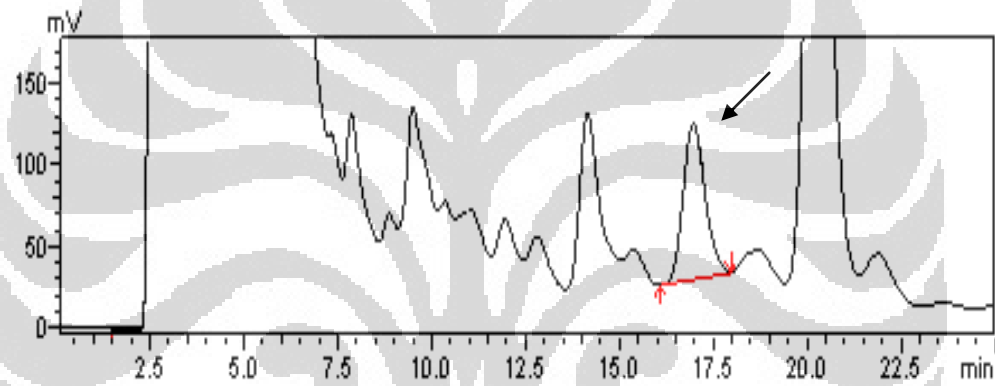
Pengukuran asam S-fenil merkapturat dengan HPLC pada penelitian kali ini menggunakan prinsip fasa terbalik (*reversed phase*). Fasa gerak yang digunakan adalah metanol : asam perklorat 0,001 N dengan komposisi 40:60 dan fasa diam kolom C-18. dengan kondisi tersebut didapatkan waktu retensi asam S-fenil merkapturat adalah 16,8 menit.

Perhitungan kadar asam S-fenil merkapturat pada sampel dilakukan berdasarkan luas area puncak kromatogram pada waktu retensi yang sama dengan standar asam S-fenil merkapturat. Selanjutnya dikalibrasi menjadi nilai konsentrasi dengan menggunakan kurva kalibrasi.

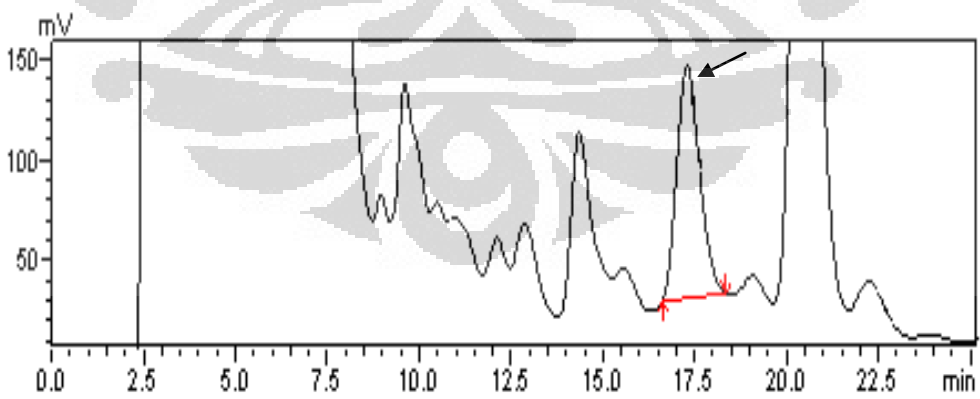
Untuk meyakinkan bahwa puncak yang diperoleh adalah benar puncak dari asam S-fenil merkapturat maka dilakukan *spike* pada sampel, yaitu mengadakan pengukuran pada sampel, standar, dan sampel yang telah ditambahkan standar. Hasilnya adalah, puncak sampel yang ditambahkan standar lebih tinggi dibanding sampel yang tidak ditambahkan standar.



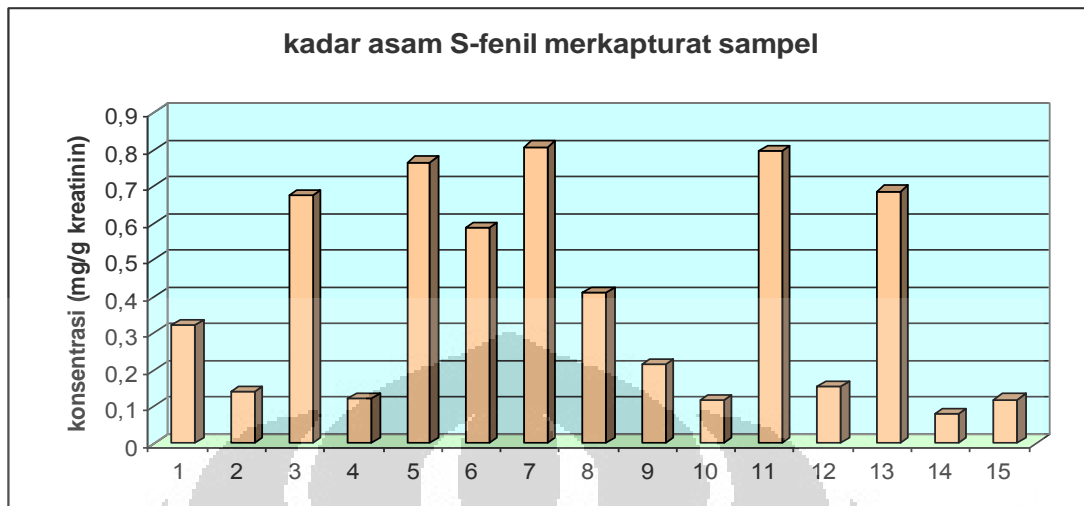
Gambar 4.8 Kromatogram standar asam S-fenil merkapturat



Gambar 4.9 Kromatogram Sampel



Gambar 4.10 Kromatogram sampel + standar



Gambar 4.11 Kadar asam S-fenil merkapturat sampel

Pada gambar di atas dapat dilihat kadar asam S-fenil merkapturat pada sampel nomor 2 yang bekerja di SPBU selama 8 bulan lebih rendah jika dibandingkan dengan sampel nomor 5 dan 6 yang sudah bekerja selama 12 bulan. Hal ini kemungkinan terjadi akibat paparan pada sampel nomor 5 dan 6 memiliki frekuensi yang lebih lama.

Kadar asam S-fenil merkapturat paling tinggi adalah pada sampel nomor 7 yaitu 0,8078 mg/g kreatinin dan paling rendah adalah sampel nomor 14 yaitu 0,0795 mg/g kreatinin.

Pada kontrol kadar asam S-fenil merkapturat memiliki rentang antara 0,0015 mg/g kreatinin sampai 0,0582 mg/g kreatinin. Dari data tersebut dapat terlihat bahwa kadar asam S-fenil merkapturat pada sampel berada lebih tinggi dibandingkan dengan rentang kontrolnya.

BAB V

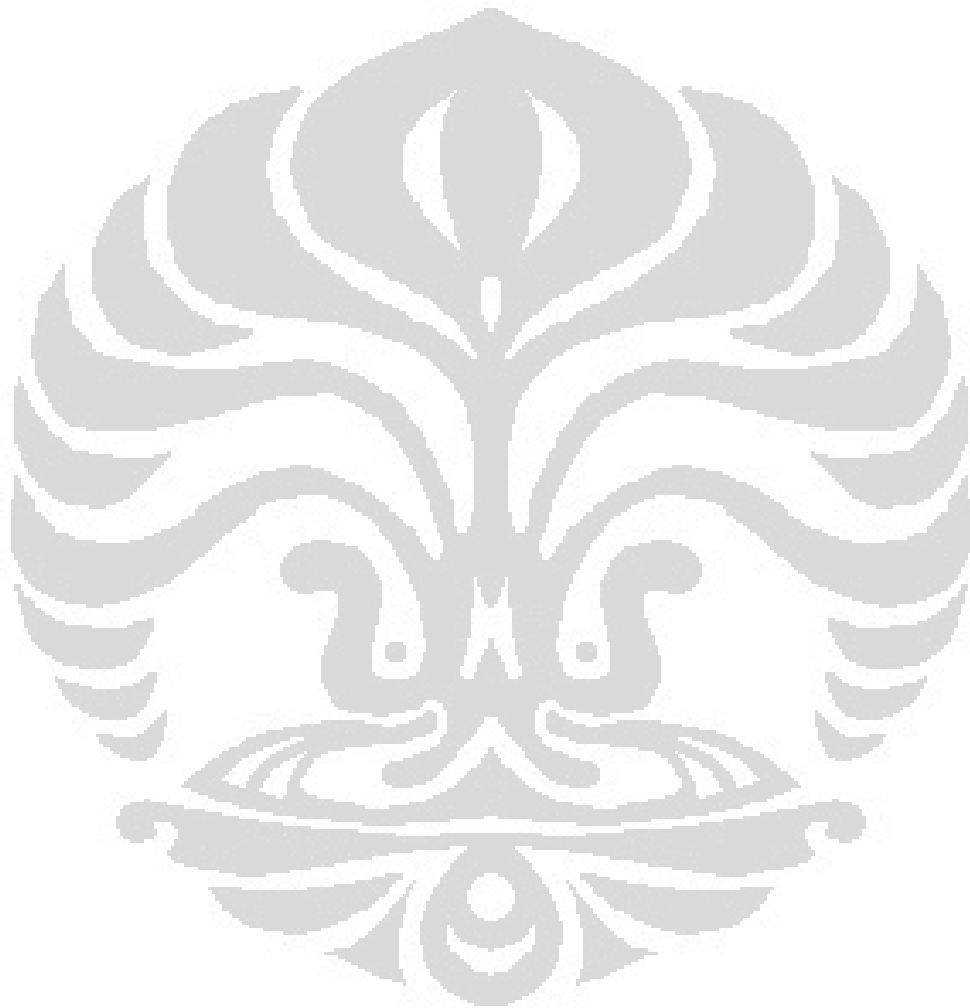
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- Konsentrasi asam S-fenil merkapturat pada sampel paling tinggi adalah 0,8078 mg/g kreatinin dan paling rendah adalah 0,0795 mg/g kreatinin. Rentang kadar asam S-fenil merkapturat pada kontrol adalah 0,0015 mg/g kreatinin sampai 0,0582 mg/g kreatinin.
- Paparan benzena pada petugas stasiun pengisian bahan bakar umum di Jakarta lebih tinggi dibandingkan rentang kontrolnya.

5.2 Saran

- Perlu dilakukan perlakuan sampel yang lebih baik lagi untuk menghilangkan pengotor pada urin.
- Memperbanyak sampel yang dianalisis, sehingga penyebaran data lebih baik lagi.



DAFTAR PUSTAKA

1. Cahyadi, F. 2007. *Pasca Bensin Tanpa Timbal, Polutan Benzena Ancam Warga Jakarta*. Environment right Depender. 16 Januari 2009, pukul 11:15.
2. Internasional Agency for Research on Cancer. 1982. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemical to Humans, vol.29. Benzene.
3. Nasution, F. 2005. *Bahaya Timbal dan Permasalahannya*.
<http://www.republika.co.id>, 16 Januari 2009, pukul 11:10.
4. Bapedal dan Lemigas (2001) dalam National Action Plan (NAP) on Integrated Vehicle Emission Reduction Strategy. 2002.
<http://www.segarjakartaku.or.id/ina/references/index.htm>, 16 Januari 2009, pukul 11:15.
5. Yeshvandra, V., S. V. S. Rana. 2001. *Biological Monitoring of Exposure to Benzene in Petrol Pump Workers and Dry Cleaners*. Toxicology Labolatory.
6. WHO (World Health Organization). 1996. *Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace* vol.1. Geneva.

7. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1997. *Toxicological Profile for benzene*. U. S. Department and Human Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/tox.profiles/tp3.html>. 20 Januari 2009, pukul 10.05.
8. Srbova, J., Teisinger J, Skramovsky S. 1950. *Absorption and elimination of inhaled benzene in man*. Arch Ind Hyg Occup Med, 2:1-8 dalam Benzene-IPCS Inchem. <http://www.inchem.org>.
9. Parke. D.V.,Williams R.T. 1953. *Studies in detoxication 49. The metabolism of benzene containing [14C1] benzene*. Biochem J, 54:231-238 dalam Benzene-IPCS Inchem. <http://www.inchem.org>. 21 Januari 2009, pukul 09.40.
10. Loden, M. 1986. *The in Vitro Permeability at Human Skin to Benzene, Ethylene glycol, Formaldehyde, and n-hexane*. Acta Pharmacol Toxicol. Vol 58. hal 382.
11. Blank, I.H.,McAuliffe D.J. 1985. *Penetration of benzene through human skin*. J Invest Dermatol, 85:522-526 dalam Benzene-IPCS Inchem. <http://www.inchem.org>. 21 Januari 2009, pukul 09.30.
12. Dowty, B.J., J.L. Laseter, and J. Storer. 1976. *Transplacental migration and accumulation in blood of volatile organic constituents*. Pediatr. Res. 10: 696-701.

13. Travis, C.C., Bowers J.C. 1989. *Protein binding of benzene under ambient exposure conditions*. *Toxicol Ind Health*;5(6):1017–1024.
14. Hunter, C.G., Blair D. 1972. *Benzene : Pharmacokinetic studies in man*. *Ann Occup Hyg*, 15:193-199 dalam Benzene-IPCS Inchem. <http://www.inchem.org>. 21 Januari 2009, pukul 09.30.
15. Hanke, J., Dutkiewicz T, Piotrowski J. 1961. *The absorption of benzene through the skin in men*. *Med Pr*, 12:413-426 dalam Benzene-IPCS Inchem. <http://www.inchem.org>. 21 Januari 2009, pukul 11.00.
16. Sabourin, P.J., Chen BT, Lucier G, Birnbaum LS, Fisher E, Henderson RF. 1987. *Effect of dose on the absorption and excretion of [14C] benzene administered orally or by inhalation in rats and mice*. *Toxicol Appl Pharmacol*, 87:325-336 dalam Benzene-IPCS Inchem. <http://www.inchem.org>. 21 Januari 2009, pukul 09.15.
17. Tharnpoophashiam, P., et all. 2004. *Simultaneous Determination of Trans, trans muconic acid anf S-phenylmercapturic acid by High Pressure Liquid Chromatography and its Application*. Mahidol University. Thailand.
18. Van Sittert, N. J., P. J. Boogaard., G. O. J. Beulink. 1993. *Application of the Urinary S-Phenylmercapturic acid Test as a Biomarker for Low*

Levels of Exposure to Benzene in Industry. British Journal of Industrial Medicine. Vol 50. Hal 460.

19. ACGIH. 2005. *TLVs and BEIs Based on the Documentation of the Threshold Limit Values for Chemical Substance and Physical Agent and Biological Exposure Indices.*
20. S-Phenylmercapturic acid.
https://www.cdnisotopes.com/intl/en/cdn_recentadditions_1.php.
10 juni 2009 , pukul 10.00
21. Boogaard, P. J., N. J. Van Sittert. 1995. *Biological Monitoring of Exposure to Benzene: a comparison between S-phenylmercapturic acid, trans, trans muconic acid, and phenol.* Occupational and environmental medicine. Vo 52. hal 611.
22. *Indonesian fuel Quality Report.* 2006. Kementrian Lingkungan Hidup RI.
23. Rismorini, R. 2006. *Human Biomonitoring pada pekerja SPBU di DKI Jakarta.* Karya Utama Sarjana Kimia. Departemen Kimia FMIPA UI. Depok.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 : LEMBAR KUISIONER



Pusat Kajian Risiko dan Keselamatan Lingkungan
FMIPA Universitas Indonesia

Alamat SPBU:---

No sampel:---

Tanggal pengambilan sampel:----
Spesimen yang diambil: urin
Waktu pengambilan sample: jam-----

DATA RESPONDEN

Nama Responden : -----
Jenis kelamin : Perempuan
Usia : ..tahun
Lokasi Tinggal : -----
Telepon : -----
Tanggal Wawancara : -----
Lama wawancara : jam----- sampai dengan jam-----

RIWAYAT RESPONDEN

Lokasi bertugas : Jakarta -----
Lama Bertugas : -----
a. < 1 tahun b. 1-3 tahun
c. 3-5 tahun d. >5 tahun

Frekuensi Kerja : ..hari per minggu
Waktu kerja : ..jam per hari

APD A. Masker a.selalu b. kadang-kadang c. tidak pernah
B. Sarung Tangan a.selalu b. kadang-kadang c. tidak pernah

- 1.apakah anda merokok?
a. sering b. kadang-kadang c. tidak pernah
- 2.apakah anda perokok pasif?
a. YA b. TIDAK
- 3.apakah anda mengkonsumsi minuman beralkohol?
a. sering b. kadang-kadang c. tidak pernah
- 4.apakah anda mengkonsumsi obat-obatan?
a. sering b. kadang-kadang c. tidak pernah
- 5.apakah anda mengkonsumsi minuman ringan (bersoda)?
a. sering b. kadang-kadang c. tidak pernah

STATUS KESEHATAN

1.Apakah anda mengalami gangguan pernafasan (batuk, radang paru-paru, sesak nafas, asma)?
a. sering b. kadang-kadang c. tidak pernah
jika YA sebutkan : -----

2.apakah anda pernah mengalami pusing atau mual selama bekerja?
a. sering b. kadang-kadang c. tidak pernah

3.apakah anda sedang atau pernah mengalami salah satu dari penyakit di bawah ini?
penyakit ya tidak
ginjal
Kanker-----
diabetes

tanda tangan

(-----)
Pewawancara

(-----)
Responden

LAMPIRAN 2: INFORMED CONSENT

PENJELASAN MENGENAI PENELITIAN

STUDI DETEKSI ASAM S-FENIL MERKAPTURAT SEBAGAI *BIOMARKER* PAPARAN BENZENA PADA PETUGAS BEBERAPA STASIUN PENGISIAN BAHAN BAKAR UMUM (SPBU) DI JAKARTA

DAN FORMULIR PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN
(INFORMED CONSENT)

Kami meminta Anda untuk turut mengambil bagian dalam suatu penelitian yang berjudul "STUDI DETEKSI ASAM S-FENIL MERKAPTURAT SEBAGAI *BIOMARKER* PAPARAN BENZENA PADA PETUGAS BEBERAPA STASIUN PENGISIAN BAHAN BAKAR UMUM (SPBU) DI JAKARTA" karena kami melihat adanya kemungkinan risiko yang disebabkan oleh paparan bahan kimia yang terdapat di lingkungan kerja anda.

Penelitian ini akan dilakukan oleh Septiana Dwi Puspasari, mahasiswi Sarjana Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, untuk mengetahui adanya indikasi paparan benzena melalui analisis spesimen urin pada kelompok subyek yang berisiko.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah terkait senyawa kimia yang terdapat di lingkungan. Partisipasi Anda dalam penelitian ini akan memberi sumbangsih besar bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam mendeteksi secara dini risiko kanker akibat karsinogen di lingkungan. Partisipasi Anda dalam penelitian ini tidak akan menyebabkan beban keuangan bagi Anda atau keluarga Anda.

Pengambilan urin

Urin Anda akan kami minta sebanyak 50 mL untuk keperluan penelitian kami. Urin ini akan kami periksa untuk mengetahui adanya metabolit asam S-fenil merkapturat yang terjadi sebagai penanda biologik (*biomarker*) terhadap paparan benzena.

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.

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 risiko untuk terjadinya paparan benzena antara lain paparan melalui lingkungan kerja.

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.

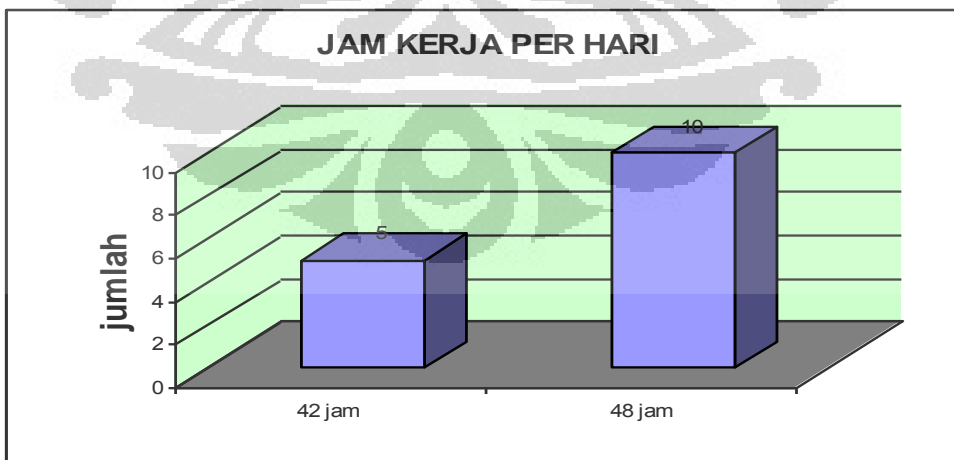
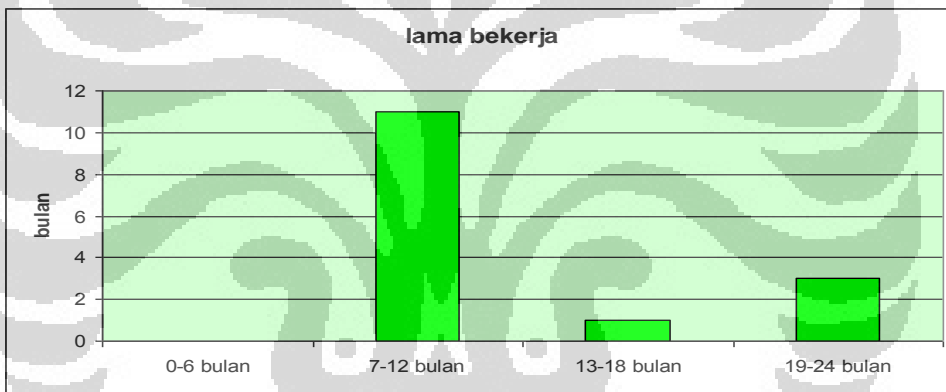
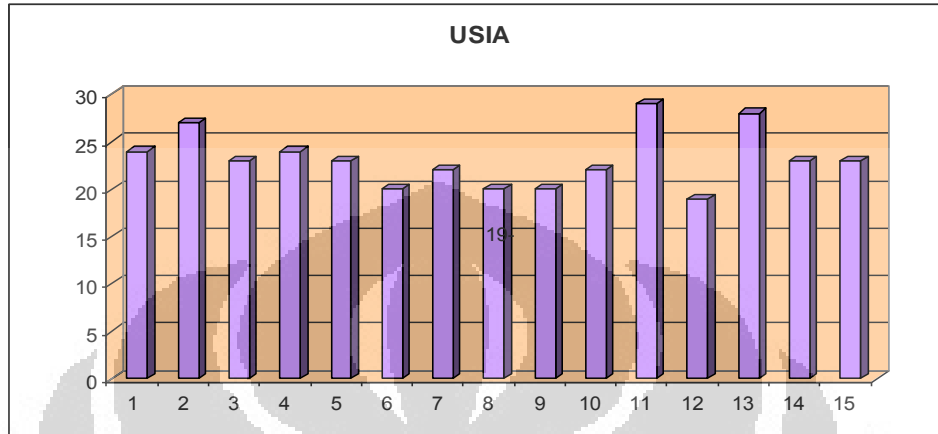
Tanda Tangan

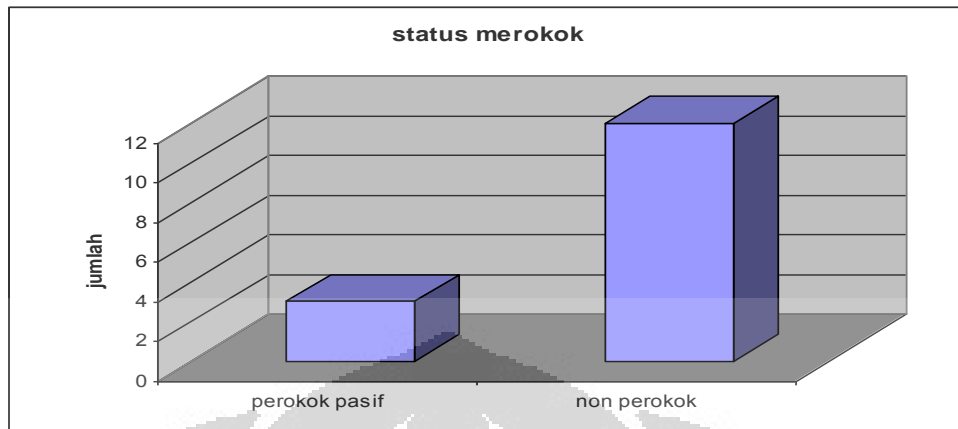
Saya telah membaca, atau dibacakan kepada saya apa yang tertera di atas ini, dan saya telah diberi kesempatan untuk mengajukan pertanyaan-pertanyaan dan membicarakan kegiatan penelitian ini dengan para anggota tim penelitian. Saya memahami maksud, risiko, lamanya waktu dan prosedur penelitian ini. Dengan 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 saksi	----- Tanggal
----- Tanda tangan dan nama peneliti	----- Tanggal

LAMPIRAN 3 : SAMPEL

A. Hasil Kuisisioner Sampel



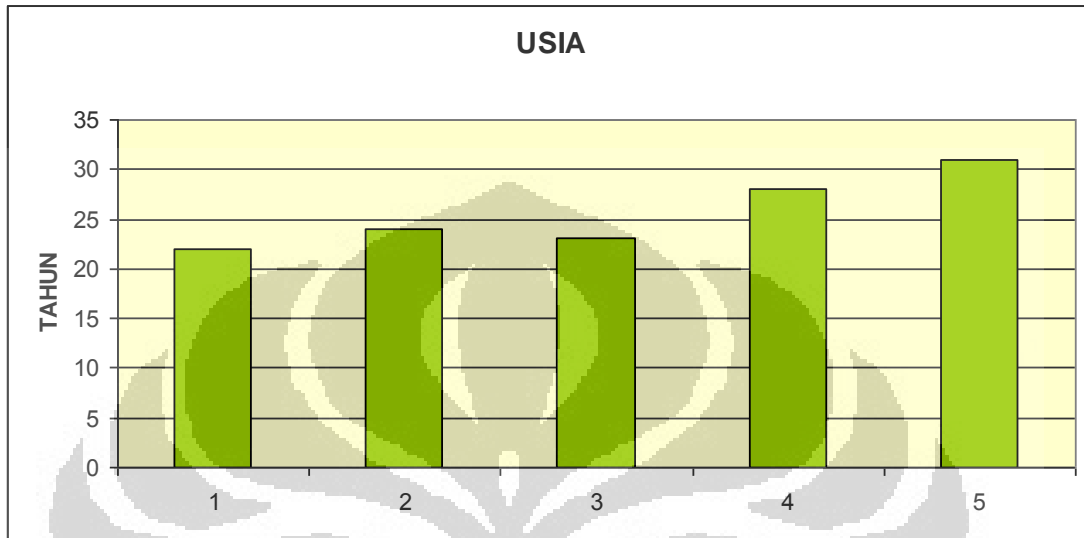


B. Hasil Pengukuran Asam S-fenil Merkapturat Sampel

NOMOR SAMPEL	KREATININ	ASAM S-FENIL MERKAPTURAT	
		mg/L	mg/g kreatinin
1	1,3859	0,4444	0,3207
2	2,2751	0,3185	0,1400
3	1,1844	0,8003	0,6757
4	2,5729	0,3128	0,1216
5	1,470	1,1264	0,7663
6	1,7615	1,0319	0,5858
7	0,184	0,1486	0,8078
8	0,7639	0,3142	0,4113
9	1,1446	0,2457	0,2146
10	1,6606	0,1958	0,1179
11	1,1636	0,9259	0,7957
12	2,6288	0,4107	0,1562
13	1,7272	1,1876	0,6876
14	0,3687	0,0293	0,0795
15	2,0722	0,2487	0,1200

LAMPIRAN 4 : KONTROL

A. Hasil Kuisisioner Kontrol

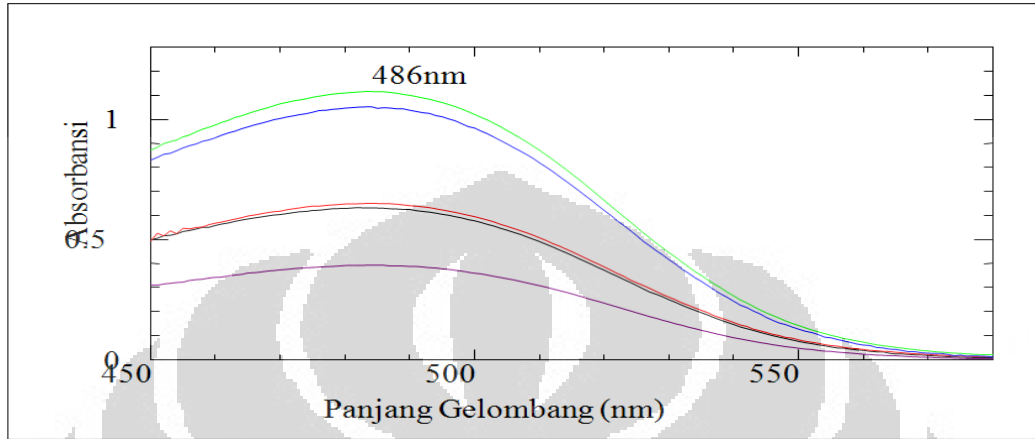


B. Hasil Pengukuran Asam S-fenil Merkapturat Pada Kontrol

NOMOR KONTROL	KREATININ	ASAM S-FENIL MERKAPTURAT	
		mg/L	mg/g kreatinin
1	1,3008	0,0019	0,0015
2	0,3734	0,0119	0,0319
3	0,4013	0,0172	0,0430
4	2,8278	0,0866	0,0306
5	2,3621	0,1374	0,0582

LAMPIRAN 5 : KREATININ

Kurva Absorbansi Kreatinin Pada Beberapa Panjang Gelombang



LAMPIRAN 6 : ASAM S-FENIL MERKAPTURAT

A. Perhitungan LOD dan LOQ

konsentrasi	Luas puncak (y)	y'	y - y'	(y - y') ²
0.1	8960	9019,24	-59,243	3509,7
0,05	4684	4538,14	145,85	21274,2
0,025	2413	2297,59	115,40	13318,7
0,01	895	953,26	-58,26	3394,57
0,05	407	505,15	-98,15	9634,01
				51131,18

$$S_y = 130,5519$$

$$\text{LOD} = (3 \cdot s_y) / b = 0,0044$$

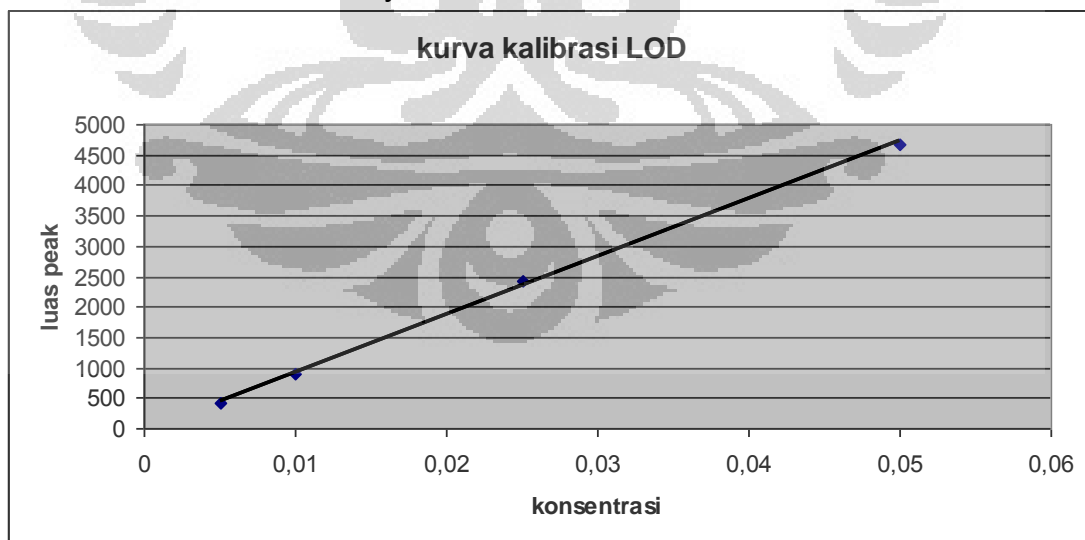
$$\text{LOQ} = (10 \cdot s_y) / b = 0,0145$$

Volume residu yang digunakan adalah 500 μL maka setara dengan

$$\text{LOD} = 500 \mu\text{L} \times 0,0044 \text{ mg/L} \times 1 \text{ L} / 106 \mu\text{L} = 2,20 \text{ ng metabolit dalam sampel}$$

$$\text{LOQ} = 500 \mu\text{L} \times 0,0145 \text{ mg/L} \times 1 \text{ L} / 106 \mu\text{L} = 7,28 \text{ ng metabolit dalam sampel}$$

Kurva kalibrasi LOD $y = 89862x + 57,043$



B. Presisi

	y	y'	y-y'	(y-y') ²	Jumlah (y-y') ²	sd	%kv
1 ppm	86420	86312	108	11664	316182	251,46	0,29%
	86164		-148	21904			
	86176		-136	18496			
	86165		-147	21609			
	86782		470	220900			
	86165		-147	21609			
	= 517872						
5 ppm	465284	465803,5	-519,5	269880,25	331744165,5	8415,48	1,75%
	460363		-5440,5	29599040,3			
	473449		7645,5	58453670,3			
	471695		5891,5	34709772,3			
	471502		5698,5	32472902,3			
	452528		-13275,5	176238900			
	= 2794821						
10 ppm	861575	861534,8	40,17	1613,361	141212,83	168,06	0,02%
	861655		120,17	14440,306			
	861204		-330,83	109450,67			
	861559		24,17	584,03			
	861655		120,17	144-,306			
	861561		26,17	684,7			
	= 5169209						

Nilai % kv < 2%

LAMPIRAN 7 : KONVERSI

Perhitungan konversi kadar metabolit benzena

dari mg/L menjadi mg/g kreatinin

$$\begin{aligned} \frac{\text{kadar SPMA (mg/L)}}{\text{kadar kreatinin (mg/mL)}} &= \frac{\text{mg/L}}{\text{mg/mL}} \times \frac{1 \text{ L} / 1000 \text{ mL}}{1 \text{ g} / 1000 \text{ mg}} \\ &= \frac{\text{mg} / 1000 \text{ mL}}{\text{g} / 1000 \text{ mL}} \\ &= \frac{\text{mg}}{\text{g}} \end{aligned}$$