

## **UJI KUALITATIF BISPHENOL A DAN DIETHYLHEXYL PHTHALATE MENGGUNAKAN TEKNIK GC/MS BERDASARKAN PERHITUNGAN ISOTOP RASIO DAN INDEKS RETENSI**

Hendris Hendarsyah Kurniawan, Eka Dian Pusfitasari

Pusat Penelitian Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Tangerang

E-mail: hendarsyah99@yahoo.com

### **Abstrak**

Banyak penggunaan plastik jenis polikarbonat yang digunakan di kalangan masyarakat, dimana plastik ini mengandung senyawa bisphenol A (BPA). BPA dapat berpindah/bermigrasi ke dalam makanan atau minuman jika suhunya dinaikkan karena pemanasan. Apabila terpapar, BPA dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan. Karena dampak inilah, pemerhati kesehatan dan juga pemerintah menyarankan perlunya pengawasan dalam penggunaan plastik yang mengandung BPA. Selain BPA, bahan pemlastin Diethyl hexyl phthalate (DEHP) yang merupakan plasticizer juga banyak digunakan dalam proses pembuatan plastik dan berpotensi bermigrasi ke lingkungan. BPA dan DEHP banyak dianalisa menggunakan kromatografi gas yang ditandemkan dengan detektor spektrometri massa (GC/MS) karena tingkat sensitifitasnya yang tinggi. Teknik identifikasi BPA dan DEHP dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pembandingan pola fragmentasi berdasarkan rasio isotop dan perhitungan indeks retensi. Pada penelitian ini, hanya BPA yang berhasil dihitung indeks retensinya menggunakan enam variasi injeksi berbeda, yaitu senilai 2191,6 iu.

**Kata kunci:** plastik, GC/MS, fragmentasi, indeks retensi, BPA, DEHP

### **Abstract**

*There are many polycarbonate plastics are used in the community, and these plastics contain compounds such as bisphenol A (BPA). BPA can migrate into food or drink if the temperature is raised due to heating processes. Because of this impact, Government and Health Observers suggest the need of monitoring in the use of plastics containing BPA. In addition to BPA, Diethyl hexyl phthalate (DEHP) which is known as plasticizer; is also widely used in plastic manufacturing process and has potential to migrate to the environment. BPA and DEHP are widely analyzed by using gas chromatography tandem mass spectrometry detectors (GC/MS) due to their high sensitivity. The identification of BPA and DEHP were performed by comparing fragmentation patterns based on isotope ratios and calculating the retention index. In this study, only BPA that had been successfully calculated its retention index with six different variation of injections, which the RI value was 2191.6 iu.*

### **PENDAHULUAN**

Plastik merupakan bahan yang sering digunakan dalam kehidupan sehari hari. Salah satu jenis plastik yang banyak digunakan adalah plastik jenis polikarbonat, dimana plastik ini mengandung senyawa yaitu 2,2 – bis (4-hidroksifenil) atau yang lebih dikenal dengan bisphenol A (BPA). Dengan banyaknya plastik jenis polikarbonat digunakannya dalam kehidupan sehari hari terutama dalam bidang pangan maka

berbagai kajian tentang migrasi BPA dan efeknya terhadap kesehatan telah banyak dilakukan.

Fenomena interaksi antara kemasan dengan bahan pangan merupakan hal yang terpenting, fenomena tersebut salah satu adalah proses transfer atau migrasi senyawa-senyawa yang berasal dari kemasan ke dalam produk pangan khususnya yang berbahan dasar plastik (BPOM,2005) [1,2]. Proses migrasi senyawa kimia dapat terjadi

saat terdapat kontak antara bahan yang mengandung bahan kimia tersebut terhadap bahan lain. Proses migrasi terbagi atas 2 jenis: (1). Migrasi secara menyeluruh (global migration), dan (2). Migrasi secara spesifik/khusus (Spesific migration). Migrasi secara menyeluruh (global migration) terjadi dimana keseluruhan dari substansi/komponen yang ada (komponen toksik dan komponen nontoksik) pada bahan kemasan melalui fase kontak bermigrasi ke dalam makanan atau produk pangan. Sedangkan migrasi secara spesifik/khusus yaitu terjadinya perpindahan komponen-komponen yang diketahui atau dianggap berpotensi membahayakan kesehatan manusia (Anonim, 2006) [3].

Selain dari BPA, Di-(2-ethylheksil) ftalat (DEHP) termasuk bahan yang banyak digunakan dalam pembuatan plastic [4]. DEHP merupakan bahan yang ditambahkan pada pembuatan botol polietilena tereftalat (PET) yang umumnya digunakan sebagai pengemas air mineral. DEHP mempunyai rumus kimia  $C_6H_6(CO_2C_8H_{17})_2$  [5,6]. Senyawa ini dapat larut dalam minyak, dan sedikit larut dalam air.

BPA, DEHP, dan senyawa turunannya dapat dianalisis menggunakan alat kromatografi gas detektor spektrometri massa (MSD) dan Flame Ionization Detector (FID) [7]. Pada studi kali ini akan dibahas teknik analisis kualitatif untuk memastikan apakah senyawa yang teranalisa betul-betul merupakan senyawa target. Teknik analisis yang digunakan adalah dengan menggunakan perbandingan nilai rasio isotop dan nilai indeks retensi Kovats. Metode indeks retensi (RI) yang diperkenalkan oleh Kovats, mengharapkan senyawa yang ditargetkan dapat teridentifikasi dengan benar. RI merupakan perbandingan antara waktu tambat senyawa target dengan

waktu tambat dua hidrokarbon alkana yang terelusi diantara senyawa target. Nilai RI tidak akan berubah meskipun terdapat perubahan pada parameter proses injeksi pada kolom yang sama.

Terdapat dua macam kondisi yang dapat diterapkan jika melakukan perhitungan RI menggunakan alat kromatografi gas. Kondisi tersebut adalah kondisi temperatur terprogram dan isothermal. Formula untuk menentukan nilai indeks retensi suatu senyawa pada masing-masing kondisi, diberikan oleh Persamaan 1 dan 2 [8].

$$I = \left[ \frac{t_{r(unknown)} - t_{r(n)}}{t_{r(N)} - t_{r(n)}} \right] * (100 \times z) + (100 \times n)$$

(Persamaan 1)

$$I = 100 \times \left[ n + (N - n) \frac{\log(t_{r(unknown)}) - \log(t_{r(n)})}{\log(t_{r(N)}) - \log(t_{r(n)})} \right]$$

(Persamaan 2)

Dengan:

Persamaan 1 = Kondisi temperatur terrogram

Persamaan 2 = Kondisi isothermal

I = Indeks Retensi Kovat

n = Rantai karbon alkana yang terelusi sebelum senyawa target

N = Rantai karbon alkana yang terelusi setelah senyawa target

$t_r(unknown)$  = Waktu retensi senyawa target

z = Perbedaan jumlah rantai karbon N dan n.

Berdasarkan kedua formula di atas, untuk mendapatkan nilai RI, selain dilakukan injeksi senyawa target juga harus dilakukan injeksi senyawa hidrokarbon alkana yang terelusi diantara senyawa target, dengan syarat kondisi sistem kromatografi gas saat injeksi berlangsung adalah sama pada kolom kromatografi gas yang sama pula [9].

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Standard BPA dan DEHP diperoleh dari Sigma Aldrich; *test mixture*; hidrokarbon alkana C<sub>12</sub> - C<sub>24</sub> dari Sigma Aldrich; Diklorometan dari e-Merck.

### Metode

#### Pembuatan larutan stock senyawa BPA

Senyawa BPA dilarutkan dalam pelarut asetonitril hingga diperoleh konsentrasi sebesar 5000 ppm yang kemudian disebut sebagai larutan stok.

- Larutan stok diencerkan 50 kali dengan pelarut diklorometan hingga menghasilkan larutan standar dengan konsentrasi masing-masing sebesar 100 ppm.
- Larutan standar dengan konsentrasi 100 ppm tersebut dipipet sebesar 100 µL dan diencerkan hingga 1000 µL dan menghasilkan konsentrasi sebesar 10 ppm.

#### Pembuatan larutan stock senyawa DEHP

Senyawa DEHP dilarutkan dalam pelarut asetonitril hingga diperoleh konsentrasi sebesar 5000 ppm yang kemudian disebut sebagai larutan stok.

- Larutan stok diencerkan 50 kali dengan pelarut diklorometan hingga menghasilkan larutan standar dengan konsentrasi masing-masing sebesar 100 ppm.
- Larutan standar dengan konsentrasi 100 ppm tersebut dipipet sebesar 100 µL dan diencerkan hingga 1000 µL dan menghasilkan konsentrasi sebesar 10 ppm.

### Menghitung nilai RI

Penghitungan nilai RI diawali dengan cara menyuntikkan sampel kosong ke dalam alat. Jika sudah dalam kondisi baik, dilanjutkan dengan menyuntikan standar BPA. Standar BPA yang memiliki konsentrasi 10 ppm di suntikan ke dalam sistem GC/MS dengan kondisi parameter yang telah ditentukan. Setelah itu, hidrokarbon

alkana C<sub>8</sub> – C<sub>24</sub> dalam *test mix* disuntikkan ke dalam sistem kromatografi gas dengan parameter injeksi dan kolom kapiler yang sama. Hal sama dialukan juga untuk senyawa DEHP. Waktu retensi masing-masing senyawa BPA, DEHP, dan hidrokarbon alkana dicatat untuk dihitung nilai RI nya berdasarkan persamaan 2.

### Peralatan

GC/MS yang digunakan adalah GC Agilent 7890 B tandem MSD 5977 A, kolom yang digunakan adalah kolom kapiler DB-5MS UI yang berukuran 30 m x 0,25 mm i.d x 0,25 µm. Gas pembawa yang digunakan adalah gas Helium dengan laju alir 0,8 ml/min; 1 ml/min; dan 1,3 mL/min. Jenis injeksi yang digunakan adalah *splitless mode*, dengan temperatur pada injektor adalah 250°C. Detektor yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mass-Spectrometry* (MS) dengan suhu pada *ion source* dan *interface* berturut-turut adalah 230°C dan 250°C. Untuk proses analisis digunakan *Electron Impact* (EI) dimana energi ionisasinya adalah 70eV, dan data massa yang digunakan adalah 40-600 Da.

Dalam menghitung nilai dari RI untuk senyawa BPA dan DEHP, digunakan tujuh metode, yaitu:

- 40°C/1menit; 10°C/menit sampai 300°C tahan 2 menit, laju alir gas helium 1 ml/min [Suhu awal kolom adalah 40°C dan ditahan selama satu menit; kemudian suhu dinaikkan sebesar 10°C tiap menitnya hingga mencapai suhu 300°C. Setelah suhu kolom mencapai 300°C, kemudian dipertahankan selama 2 menit]
- 40°C/1menit; 20°C/menit sampai 200°C, 10°C/menit sampai 300 tahan 5 menit, laju alir gas helium 1 ml/min
- 100°C/1menit; 15°C/menit sampai 300°C tahan 5 menit, laju alir gas helium 1 ml/min

- $80^{\circ}\text{C}/1\text{menit}$ ;  $12^{\circ}\text{C}/\text{menit}$  sampai  $300^{\circ}\text{C}$  tahan 5 menit, laju alir gas helium 1 ml/min
- $80^{\circ}\text{C}/1\text{menit}$ ;  $12^{\circ}\text{C}/\text{menit}$  sampai  $300^{\circ}\text{C}$ ; tahan 5 menit, laju alir gas helium 0,8 ml/min
- $80^{\circ}\text{C}/1\text{menit}$ ;  $12^{\circ}\text{C}/\text{menit}$  sampai  $300^{\circ}\text{C}$ ; ditahan 5 menit, laju alir gas helium 1 ml/min.

## HASIL DAN DISKUSI

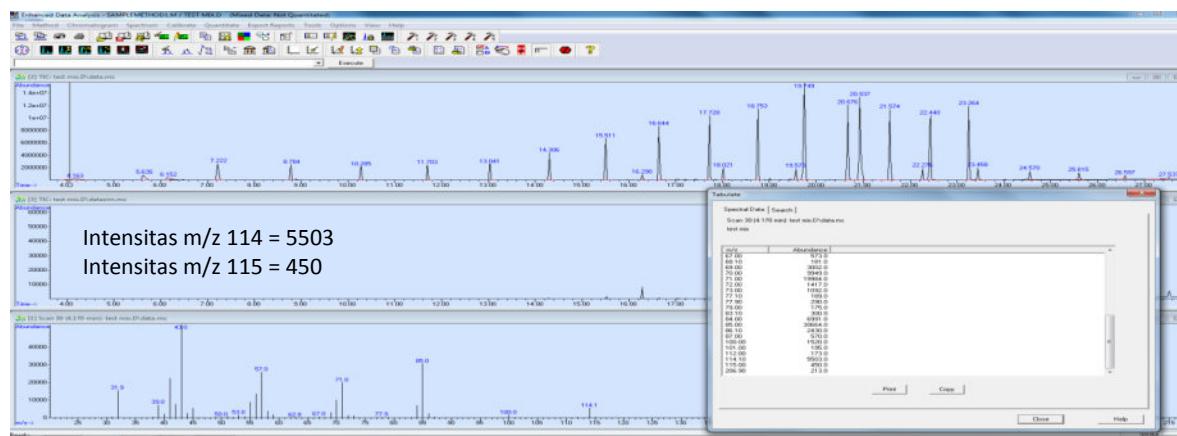
### Perhitungan Isotop Rasio

Penghitungan isotop rasio sebelum pengembangan metode analisa sangatlah penting. Unsur karbon  $^{12}\text{C}$  yang diketahui sangat sering ditemui di alam, memiliki isotop  $^{13}\text{C}$ . Jumlah  $^{13}\text{C}$  di alam adalah berkisar 1,1% jika dibandingkan dengan  $^{12}\text{C}$ . Jika berbicara tentang fragmentasi massa, maka rasio isotop ini juga sangat diperhitungkan, terutama jika senyawa target kita memiliki unsur yang memiliki isotop, misalnya  $^{12}\text{C}$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{32}\text{S}$ , dan lain sebagainya.

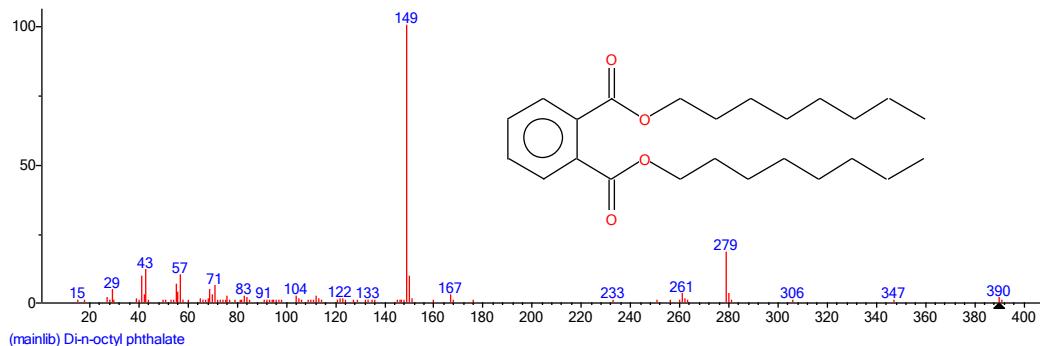
Selain dikalibrasi menggunakan proses tuning, senyawa test mixture yang memiliki kandungan hidrokarbon alkana (contoh pada Gambar 1 adalah contoh untuk Dekana) juga dapat digunakan untuk memastikan bahwa isotop rasio telah dapat dilakukan secara tepat oleh sistem GC/MS yang akan digunakan untuk analisa.

Penentuan fragmentasi inti dan isotop C-12 dan C-13 pada senyawa standar Diethyl hexyl phthalate (DEHP).

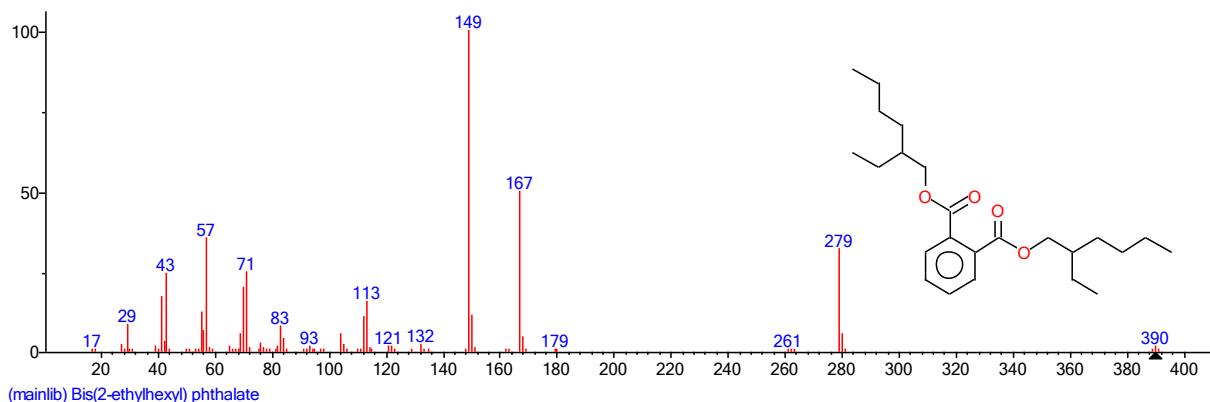
BPA dan DEHP memiliki kesamaan fragmentasi dan juga rumus formula yaitu  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$ . Akan tetapi dapat dilihat dari gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa perbandingan fragmentasi m/z yang dihasilkan oleh kedua senyawa tersebut sangatlah berbeda. Perhitungan intensitas fragmentasi inti m/z 149, 167, 279, dan 390 sekaligus perbandingan intensitas fragmentasi isotopnya akan sangat membantu untuk analisa senyawa target baik BPA maupun DEHP.



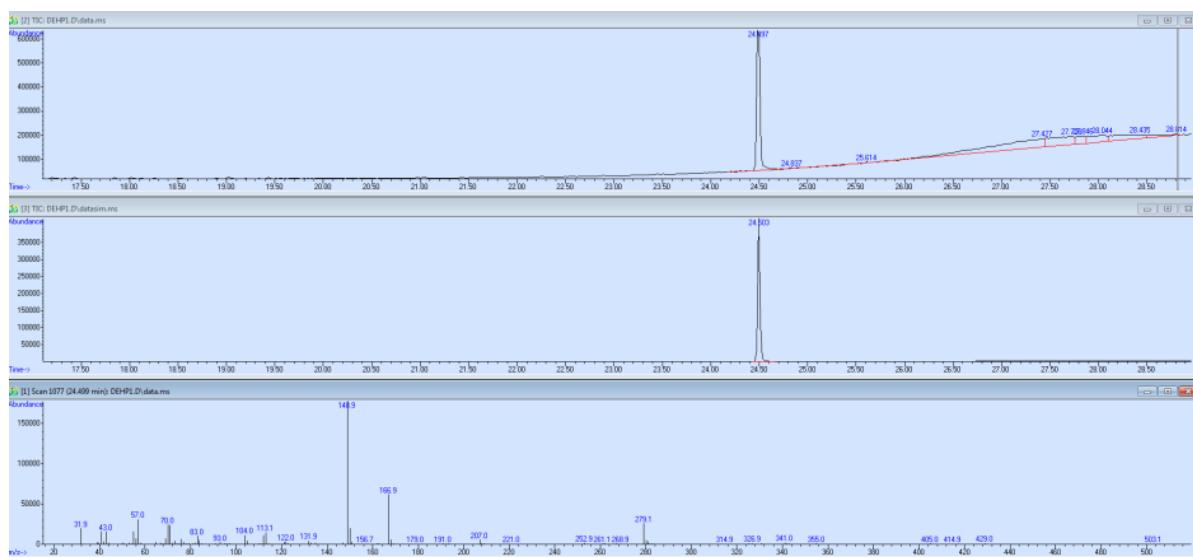
Gambar 1. Isotop Rasio  $\text{C}_{10}$



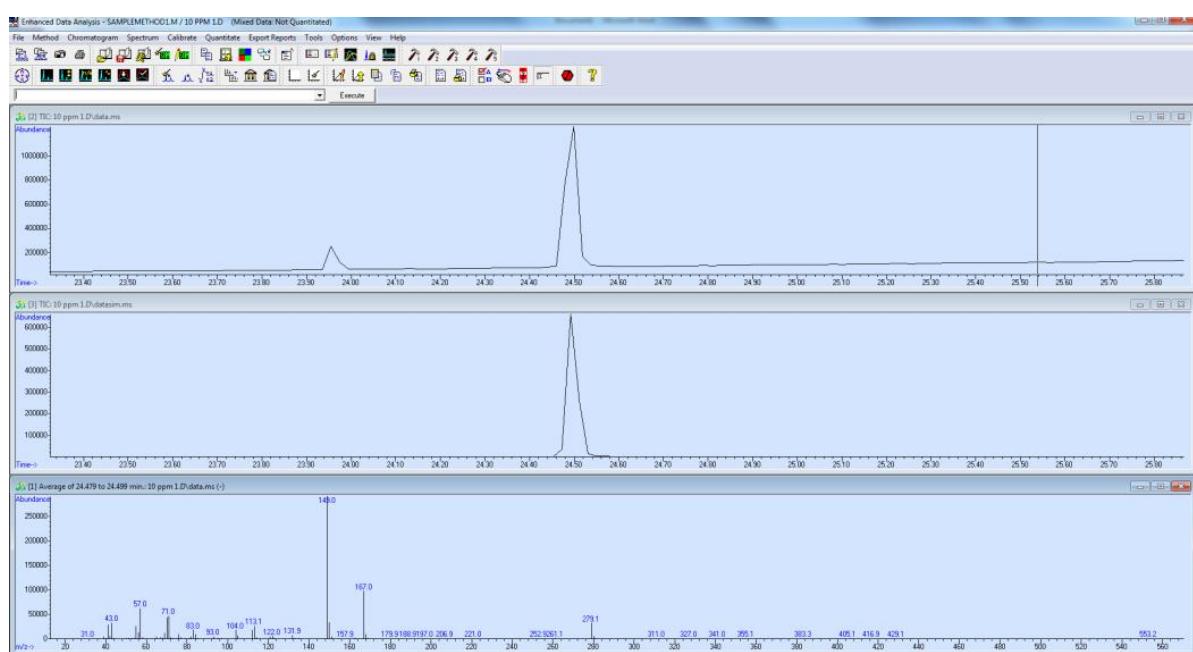
Gambar 2. BPA



**Gambar 3.** DEHP



**Gambar 4.** Fragmentasi dari DEHP



**Gambar 5.** Fragmentasi dari BPA

Gambar 4 menunjukkan hasil dari standar DEHP yang diinjeksikan pada sistem GC/MS, sedangkan Gambar 5 menunjukkan hasil dari standar BPA. Kedua senyawa tersebut terelusi pada  $T_r = 24,499$  menit. Selain itu, jika dilihat dari pola fragmentasi yang ditunjukkan, pola dan tinggi intensitas fragmentasi dapat dikatakan sama.

Tabel 1 menunjukkan perbandingan intensitas fragmentasi seharusnya DEHP dan BPA. Selain itu, Tabel 1 juga mencakup data perbandingan intensitas fragmentasi yang dihasilkan oleh standar DEHP dan BPA yang digunakan dalam penelitian kali ini.

**Tabel 1.** Perbandingan Intensitas

Fragmentasi m/z 149 dengan m/z 167 Pada BPA dan DEHP Baik yang Diperoleh Dari NIST [10]

Maupun Dari Hasil Penelitian

Komponen Senyawa	m/z 149	m/z 167
BPA pada NIST lib	37	1
DEHP pada NIST lib	2	1
BPA percobaan	2,99	1
DEHP percobaan	3	1

Berdasarkan data yang ditunjukkan oleh Tabel 1, diketahui bahwa senyawa standar yang digunakan pada penelitian kali ini adalah senyawa yang sama, yaitu DEHP. Hasil ini membuktikan bahwa penghitungan intensitas fragmentasi sangat bermanfaat dalam hal konfirmasi analisa kualitatif menggunakan detektor spektrometri massa. Kesimpulan: BPA yang dianalisa dalam penelitian ini bukanlah senyawa BPA, akan tetapi adalah DEHP.

#### Penentuan indeks retensi senyawa standard DEHP

Konfirmasi kualitatif berikutnya adalah dengan menggunakan metode penghitungan indeks retensi (RI).

$$I = \left[ \frac{t_{r(unknown)} - t_{r(n)}}{t_{r(N)} - t_{r(n)}} \right] * (100 \times z) + (100 \times n) \quad \dots(1)$$

I = Kovats Indeks retensi

n = jumlah atom C dari alkana yg kecil  
N = jumlah atom C dari alkana yg besar  
Z = selisih jumlah atom C alkana besar & yg kecil  
 $t'r$  = waktu retensi analit target

Indeks retensi yang diperkenalkan oleh Kovats merupakan teknik modern untuk membantu konfirmasi analisa kualitatif. Nilai RI tidak berubah untuk setiap senyawa walaupun diberi perlakuan suhu dan laju alir yang berbeda pada kolom GC yang sama. Hal ini berbeda dengan waktu retensi ( $T_r$ ) yang nilainya akan selalu berubah bergantung pada perubahan kondisi operasi analisa, baik kondisi suhu oven kolom maupun laju alir gas pembawa. Penghitungan indeks retensi memerlukan dua hidrokarbon alkana yang terelusi di antara senyawa target. DEHP memerlukan hidrokarbon alkana C24 dan C28 untuk dapat dikonvesikan kedalam Formula (1). Akan tetapi, karena tidak dimilikinya hidrokarbon standar C28, maka RI DEHP tidak dapat dihitung.

Perhitungan nilai RI akhirnya diujicobakan pada senyawa lain yaitu BPA (Bisphenol A) yang merupakan *flame retardant*. BPA dianalisa dengan menggunakan enam (6) macam metode berbeda yaitu seperti yang tertera pada Tabel 2. Sementara Tabel 3 menunjukkan nilai RI BPA yang dihasilkan dari enam metode berbeda.

Tabel 3 menunjukkan bahwa dengan kondisi injeksi yang berbeda, maka nilai  $T_r$  (waktu retensi) baik DEHP, BPA, maupun hidrokarbon yang terelusi diantara BPA (yaitu Hidrokarbon alkana C21, C22, dan C24) berbeda. Akan tetapi, jika nilai  $T_r$  tersebut diperhitungkan pada Formula (1), maka akan mendapat nilai RI yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa nilai RI tidak akan berubah pada kolom GC yang sama walaupun suhu kolom dan laju alir gas pembawa berubah.

**Tabel 2.** Metode Running BPA Untuk Menghitung Nilai RI

Metode	Parameter
I	40 C/1; 10 – 300 C hold 2 min (1mL/min)
II	40 C/1; 20 – 200 C; 10 – 300 C hold 5 min (1 mL/min)
III	100 C/1; 15 – 300 C hold 5 min (1 mL/min)
IV	80 C/1; 12-300 C hold 5 min (1 mL/min)
V	80 C/1; 12-300 C hold 5 min (0,8 mL/min)
VI	80 C/1; 12-300 C hold 5 min (1,3 mL/min)

**Tabel 3.** Waktu Retensi dan RI Untuk BPA dan DEHP

Run Method	Tr DEHP	Tr BPA	Tr C21	Tr C22	Tr C24	Tr C28	RI DEHP	RI BPA
I	24,497	21,452	20,676	21,574	23,264	-	-	2186,414
II	16,587	13,827	13,108	13,877	15,408	-	-	2193,498
III	13,675	11,674	11,089	11,689	12,822	-	-	2197,500
IV	17,788	15,268	14,589	15,342	16,755	-	-	2190,173
V	18,129	15,62	14,913	15,666	17,075	-	-	2193,891
VI	17,402	14,877	14,211	14,968	16,374	-	-	2187,979
Rata-Rata								2191,576

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Pusat Penelitian Kimia – LIPI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian sehingga penulis dapat menyajikan data seperti yang tertuang pada naskah ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- BPOM. 2005. Berita Pengemasan Edisi 13 April-Mei 2005. Federasi Pengemas Indonesia, Jakarta.
- Guart A, Bono-Blay F, Borrell A, Lacorte S. 2011. Migration of plasticizers phthalates, bisphenol A and alkylphenols from plastic containers and evaluation of risks. *Food Additives and Contaminants*, 28 (5): 676-685.
- Anonim. 2006. Tren kemasan Praktis dan Inovatif. FOOD REVIEW magazine. Vol. 1 Edisi perdana Februari 2006.
- Consumer Guide: Phthalates and Bisphenol A. PEHSU: Pediatric Environmental Health Specialty Units. http://www.pehsu.net/\_Library/facts/bpapatients\_factsheet\_03-2014.pdf. Diakses pada Juni 2016.
- Vliet, EDS V, Reitano, VM, Chhabra, JS, Bergen, GP and Whyatt, RM. 2011. A review of alternatives to di (2-ethylhexyl) phthalate-containing medical devices in the neonatal intensive care unit. *J Perinatol*. 2011 Aug; 31(8): 551–560.
- https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/dehp. Diakses pada Juni 2016.
- Pusfitasari, E.D. and Andreas. 2014. Determination of Retention Indices of Isopropyl Oleate, Isobutyl Oleate, and Diethyl-Hexyl Phthalate By Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal of Indonesia Technology*, Volume 36, No.2 2013. Page 105 – 115.
- Kovats, E. 1958 *Gaz-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen*, Teil 1:

- Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde, und Ketone.* Helvetica Chimica Acta, 41, 1915–1932.
9. Pusfitasari, E.D. 2013. Making Of Hydrocarbon Standard Mixture to Calibrate the Chromatography Gas Detector MS/FID And To Identify the Substance In Low Levels Using Kovats Retention Index. Proceedings of The National Seminar on Chemistry and Chemical Education 2013, Solo, 6 April 2013.
10. NIST MS Search 2.0. Version 2.0 g. 2012. Build December 4 2012. Mass Spectrometry Library.