Implementasi Metode Uji Deoksinivalenol (DON) dalam Mie Kering dan Mie Basah

Implementation of Deoxynivalenol (DON) Test Method in Dried Noodle and Wet Noodle

Yunita Rahmawati, Maman Rohaman, Neneng Dina Darlianti, Indri Novianti,
Frita Sintani, Erica Natalia

Balai Besar Industri Agro
Jl. Ir. H. Juanda No, 11 Bogor 16122

nie.rahmawati@gmail.com

Riwayat Naskah:

Diterima 03, 2018
Direvisi 05, 2018
Disetujui 07, 2018

ABSTRAK: Deoksinivalenol (DON) adalah mikotoksin alami terutama dihasilkan oleh *Fusarium graminearum*. Mikotoksin ini mempunyai toksisitas yang tinggi sehingga termasuk zat berbahaya bagi kesehatan manusia dan hewan. Kadar DON sebagai zat kontaminan perlu diketahui, dibatasi dan diawasi, sehingga dilakukan penelitian mengenai implementasi metode uji DON secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT/HPLC) dalam mie kering dan mie basah. Untuk membuktikan kesesuaian karakteristik metode terpilih, dilakukan validasi menggunakan matriks yang dianggap mewakili. Metode terpilih mempunyai koefisien korelasi linieritas diatas 0,995 pada rentang konsentrasi 10-1000 µg/kg. Nilai %RSD untuk presisi mie kering sebesar 0,38% < 2/3 RSD Horwitz (4,51%), dan %RSD untuk presisi mie basah sebesar 2,66% < 2/3 RSD Horwitz (4,52%). Reprodusibilitas dengan uji T didapatkan T_{hitung} sebesar 0,25 pada mie kering dan 0,01 pada mie basah, $T_{hitung} < T_{tabel}$ maka H_0 diterima dan reprodusibilitas dinyatakan tidak berbeda nyata. % Recovery untuk akurasi antara 83-101% dimana nilai tersebut sudah memenuhi syarat keberterimaan yaitu antara 80%-110%. Limit deteksi pengujian DON sebesar 0,02 mg/kg dan limit kuantitasi sebesar 0,06 mg/kg yang dihitung berdasarkan kurva kalibrasi standar, sedangkan untuk limit deteksi metode didapatkan hasil sebesar 0,02 mg/kg.

Kata kunci: Deoksinivalenol (DON), KCKT/HPLC, mie, validasi

ABSTRACT: Deoxynivalenol (DON) is a natural mycotoxin primarily produced by *Fusarium graminearum*. Due to the high toxicity of DON, these mycotoxin include substances harmful to human and animal health. Therefore, the levels of DON need to be known, restricted, and controlled, research is needed on the implementation of the DON test method with high performance liquid chromatography (HPLC) on dry noodles and wet noodles. To prove the suitability of the characteristics of the selected method, validation is done. The selected method has a linearity correlation coefficient above 0.995 in the concentration range of 10-1000 µg/kg. % RSD value for dry noodle precision was 0.38% < 2/3 RSD Horwitz (4.51%), and for wet noodle precision was 2.66% < 2/3 RSD Horwitz (4.52%). The reproducibility with Ttest is obtained $T_{calculation}$ 0.25 in dry noodles and 0.01 in wet noodle, $T_{calculation} < T_{table}$ then H_0 accepted and reproducibility otherwise not significantly different. % Recovery for accuracy between 83-101% where the value is already eligible acceptance is between 80% -110%. Limit of detection for DON testing was 0.02 mg/kg and the limit of quantitation was 0.06 mg/kg, detection limit for method was 0.02 mg/kg.

Keywords: Deoxynivalenol (DON), HPLC, noodle, validation

1. Pendahuluan

Deoksinivalenol (DON) adalah mikotoksin alami terutama dihasilkan oleh *Fusarium graminearum*

(Kushiro, 2008). Mikotoksin ini mempunyai toksisitas yang tinggi sehingga termasuk zat berbahaya bagi kesehatan manusia dan hewan.

Dampak potensial dari DON pada kesehatan manusia dan hewan dapat terjadi setelah mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi DON seperti gandum, *barley*, *oats*, jagung, atau biji-bijian lainnya. DON terdeteksi juga di soba, sorgum, *popcorn* dan makanan lain untuk konsumsi manusia, seperti tepung, roti, mie, bir, dan *malt* (Sobrova, *et al.*, 2010). Kontaminasi DON dalam pangan dapat menyebabkan beberapa gangguan kesehatan seperti gangguan sistem pencernaan, pusing, sakit kepala, iritasi tenggorokan, mual, muntah, dan diare (Pieters, *et al.*, 2002).

Batas maksimum DON dalam produk mie sebesar 750 ppb (BSN, 2009). Batas maksimum DON yang dapat ditoleransi apabila dikonsumsi ke dalam tubuh manusia setiap hari sebesar 1 µg/kg per hari (FAO/WHO, 2011). Oleh karena itu, kadar DON sebagai zat kontaminan perlu diketahui, dibatasi, dikendalikan, dan diawasi. Guna memenuhi fungsi pengawasan tersebut dibutuhkan metode pengujian yang handal, cepat, dan ekonomis.

Penelitian dan pengembangan metode uji DON menggunakan KCKT diperlukan untuk implementasi metode tersebut di laboratorium melalui validasi metode. Validasi adalah konfirmasi melalui pengujian dan penyediaan bukti objektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus terpenuhi (BSN, 2008). Karakteristik kinerja atau parameter yang dievaluasi dalam studi validasi ini adalah akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi, dan batas kuantitasi berdasarkan protokol dan syarat keberterimaan yang telah ditetapkan.

Kegiatan penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan data validasi metode uji DON secara KCKT yang valid sehingga dapat diterapkan di laboratorium BBIA untuk pengujian rutin.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada percobaan ini meliputi bahan uji dan bahan kimia. Bahan uji yang digunakan adalah contoh mie kering dan mie basah. Sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah standar DON, air suling, larutan *phosphate buffer saline*, metanol HPLC *grade* dan asetronitril HPLC *grade*.

2.2. Alat

Alat yang digunakan dalam percobaan ini antara lain seperangkat alat KCKT yang dilengkapi dengan detektor *Photo Diode Array* (PDA), kolom X-Bridge C-18 (25cm x 4.6mm), *Immunoaffinity column* (IAC) DON, *vacuum manifold*, *sonikator*, *vortex*, *nitrogen evaporator*, neraca analitik, spatula, labu takar,

tabung reaksi, *pipetor portable*, kertas saring, alat penyaring dan membran filter 0,45 µm.

2.3. Metode

Penelitian dilakukan dalam dua tahapan, yaitu tahapan validasi metode dan uji banding. Pada tahapan validasi metode, kegiatan dilakukan dengan mengacu pada "*Rapid Quantitation of Deoxynivalenol in Cereals by HPLC-UV with DONStar™ R Immunoaffinity clean-up*" (Romer Labs Inc, 2014) dan "*Analytical Procedure to Determination Deoxynivalenol in Cereals and Cereal Products – Deoxynivalenol Analysis – Bogor 18-19th May 2015. Contract no 2011 96 06 – Organisation of Training Course on Food Testing, AETS Consortium*" (Begona, 2015) untuk kemudian dilakukan evaluasi data yang didapat secara statistik guna mendapatkan karakteristik metode.

Tahapan uji banding dilakukan dengan laboratorium lain menggunakan contoh matriks yang sama guna memperoleh tingkat keyakinan yang lebih tinggi terhadap data kuantitasi yang didapat.

2.3.1. Preparasi Larutan Standar

Larutan Standar DON 100 ppm dibuat dengan melarutkan 1 mg standar solid DON dengan metanol dalam labu takar 10 mL, dikocok sampai homogen. Kemudian dibuat larutan standar DON 20 ppm dan diencerkan kembali menjadi 2 ppm, setelah itu dibuat deret standar dengan konsentrasi 10; 20; 50; 100; 200; 500; 1000 ppb ditera dengan larutan fase gerak aquabidest : metanol : asetronitril (80:10:10). Dikocok sampai homogen kemudian dimasukkan ke dalam vial dan analisis menggunakan KCKT detektor PDA.

2.3.2. Preparasi sampel

Ditimbang 25 gram sampel mie kering dan mie basah masing-masing ke dalam erlenmeyer kemudian tambahkan 200 mL aquabidest. Ultrasonik selama 10 menit pada suhu 50°C, selanjutnya disaring dengan kertas saring whatman no. 4. Sebanyak 2 mL ekstrak dipipet ke dalam IAC DON dan dialirkan dengan laju alir 1-3 mL/menit (1 tetes/detik). Cuci kolom dengan 5 mL *phosphate buffer saline* sebanyak 2 kali.

Larutkan DON dalam kolom dengan mengalirkan 0,5 mL metanol sebanyak 3 kali (total volume 1,5 mL). Uapkan ekstrak dengan nitrogen evaporator pada suhu 50°C sampai kering. Larutkan kembali dengan 0,5 mL fase gerak aquabidest : metanol : asetronitril (80:10:10). Vortex selama 10 detik dan masukkan ke dalam insert vial, analisis menggunakan KCKT detektor PDA.

2.3.3. Kondisi operasional KCKT

Sistem KCKT yang digunakan pada analisis DON sesuai dengan metode yang terpilih, dengan rincian pada Tabel 1.

Tabel 1.

Sistem HPLC untuk analisis DON

HPLC setting	Detektor	PDA
	Range panjang gelombang	200 – 350 nm
	Panjang gelombang	220 nm
	Laju alir	1 ml/min
	Injection volume	50 µL
	Total run time	10 menit
Kolom	X- bridge C-18	Panjang 25cm, diameter 4.6mm, Particle size 5 µm
Fase gerak	H ₂ O : Asetonitril : Metanol	80 : 10 : 10
Oven program	Temperature kolom	35°C

Sumber: "Rapid Quantitation of Deoxynivalenol in Cereals by HPLC-UV with DONStar™ R Immunoaffinity clean-up. StarLine™ IAC Application Brief version V.03. Romer Labs" dan "Analytical Procedure to Determination Deoxynivalenol in Cereals and Cereal Products – Deoxynivalenol Analysis – Bogor 18-19th May 2015. Contract no 2011 96 06 – Organisation of Training Course on Food Testing. AETS Consortium. www.foodinfo-europe.com"

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Validasi metode

Telah dilakukan serangkaian pengujian laboratorium guna mendapatkan bukti-bukti objektif yang dapat memberikan gambaran kesesuaian pengaplikasian metode uji DON secara KCKT yang meliputi parameter: selektivitas, linieritas, ripitabilitas dan reproduksibilitas, akurasi, limit deteksi, serta limit kuantitasi.

3.1.1. Selektivitas

Uji awal yang dilakukan pada saat melakukan verifikasi metode uji adalah uji selektivitas. Penetapan selektivitas dilakukan dengan membandingkan kromatogram yang muncul pada larutan blanko dan larutan standar. Setelah

dilakukan pengujian, DON berada pada waktu retensi sekitar menit ke-5, seperti terlihat pada Gambar 1.

3.1.2. Linieritas

Linieritas diukur dengan menghitung koefisien korelasi (r) yang didapat dari kurva hubungan antara kadar analit dengan respon detektor (Depkes, 2001). Linieritas yang ideal memiliki nilai koefisien korelasi mendekati 1.

Berdasarkan data deret standar senyawa DON antara 10-1000 µg/kg didapatkan kurva regresi seperti Gambar 2, dengan persamaan regresi yaitu $y = 67,1 x - 411$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9996. Konsentrasi teoritis analit berada di sumbu x dan respon berupa luas area berada di sumbu y. Hasil tersebut memenuhi syarat keberterimaan yaitu $r \geq 0,995$ (AOAC, 2005).

Nilai koefisien korelasi yang diperoleh menunjukkan hasil yang sesuai persyaratan. hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang proporsional antara respon analitik (luas area) dengan konsentrasi analit yang diukur.

3.1.3. Ripitabilitas

Ripitabilitas atau uji presisi dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil uji yang dilakukan secara berulang pada contoh yang homogen (Harmita, 2004). Pengujian dilakukan dengan metode pengulangan untuk mengetahui ketepatan sistem dalam memberikan respon terhadap analit yang terdeteksi. Sebagai syarat keberterimaan digunakan persamaan koefisien variasi Horwitz (AOAC, 2005) yang menjadi acuan. Presisi suatu metode memenuhi persyaratan jika sesuai dengan syarat keberterimaan yaitu nilai %RSD lebih kecil atau sama dengan 2/3 nilai koefisien variasi Horwitz (CVH). Uji presisi dilakukan dengan cara melakukan analisa sebanyak 7 kali ulangan, seperti terlihat pada Tabel 2 dan 3.

	SampleName	Peak Name	RT	SampleWeight	Dilution
1	blank	DON	5.194	1.00000	1.00000

Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1 DON	5.458	69135	100.00	7426	1022.000	ppb

Gambar 1. Peak blanko dan standar DON

Gambar 2. Linieritas standar DON

Tabel 2.

Data replikasi hasil analisa DON pada mie kering

Ulangan	Bobot contoh (gram)	Vol akhir (mL)	Vol injek (uL)	Waktu retensi (menit)	Area contoh	Hasil (ppb)
1	25.06	50	50	5.674	9875	305.81
2	25.06	50	50	5.68	9878	305.90
3	25.05	50	50	5.681	9881	306.11
4	25.12	50	50	5.679	9878	305.17
5	25.29	50	50	5.678	9876	303.06
6	25.01	50	50	5.668	9874	306.39
7	25.01	50	50	5.675	9872	306.33
Rata-rata (x)						301.68
Standar deviasi (SD)						1.17
Relatif standar deviasi (RSD)						0.38
RSD Horwitz						6.76
2/3 RSD Horwitz						4.51

Tabel 3.

Data replikasi hasil analisa DON pada mie basah

Ulangan	Bobot contoh (gram)	Vol akhir (mL)	Vol injek (uL)	Waktu retensi (menit)	Area contoh	Hasil (ppb)
1	25.06	50	50	5.466	9837	297.68
2	25.15	50	50	5.475	10155	305.94
3	25.10	50	50	5.404	10193	307.67
4	25.19	50	50	5.426	9461	285.13
5	25.28	50	50	4.431	10257	307.34
6	25.20	50	50	5.433	10115	304.16
7	25.19	50	50	5.446	10101	303.87
Rata-rata (x)						301.68
Standar deviasi (SD)						8.03
Relatif standar deviasi (RSD)						2.66
RSD Horwitz						6.78
2/3 RSD Horwitz						4.52

Hasil evaluasi menunjukkan metode uji terpilih yang memenuhi persyaratan dinyatakan dengan nilai: mie kering %RSD sebesar 0,38% < 2/3 RSD Horwitz sebesar 4,51% dan mie basah %RSD sebesar 2,66% < 2/3 RSD Horwitz sebesar 4,52%.

3.1.4. Reprodusibilitas

Pelaksanaan evaluasi reprodusibilitas membutuhkan setidaknya dua orang untuk melakukan pengulangan analisis menggunakan contoh yang sama pada kondisi lingkungan yang berbeda. Hal tersebut dimaksudkan selain untuk dapat memperhitungkan galat yang bersumber dari perbedaan tingkat keterampilan personil, juga

memperhitungkan adanya pengaruh lingkungan yang dapat menyebabkan perbedaan yang signifikan. Kemudian dilakukan uji T untuk mengevaluasi perbedaan antara dua hasil, seperti terlihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4.

Data reprodusibilitas DON dalam mie kering

Ulangan	Data Analisis I	Data Analisis II
1	305.81	306.63
2	305.90	306.59
3	306.11	305.44
4	305.17	304.90
5	303.06	301.79
6	306.39	305.54
7	306.33	306.50
Rerata Total		305.4
Sd Total		1.41
RSD Total		0.46
2/3 CV Horwitz		12.75
n		7
Rerata		305.5
Sd		1.1663
S gabungan		1.4600
t hitung		0.25
dB		12
t tabel (P=95%)		2.18
Syarat		%RSD Total £ 7,46%; t hitung < t tabel ; Tidak Beda Nyata

Tabel 5.

Data reprodusibilitas DON dalam mie basah

Ulangan	Data Analisis I	Data Analisis II
1	297.68	288.52
2	305.94	303.12
3	307.67	305.05
4	285.13	299.07
5	307.34	304.05
6	304.16	304.63
7	303.87	307.62
Rerata Total		301.7
Sd Total		6.96
RSD Total		2.31
2/3 CV Horwitz		12.77
n		7
Rerata		301.7
Sd		8.0303
S gabungan		7.2453
t hitung		0.01
dB		12
t tabel (P=95%)		2.18
Syarat		%RSD Total £ 2,31%; t hitung < t tabel ; Tidak Beda Nyata

Seperti halnya pada reprodusibilitas, dalam evaluasi reprodusibilitas masih menggunakan syarat keberterimaan yang sama. Berdasarkan Tabel 4 dan 5, hasil evaluasi didapatkan nilai %RSD reprodusibilitas untuk mie kering 0.46% dan mie basah 2,31%, lebih kecil dari nilai 2/3 CV_{Horwitz}, sehingga dapat dikatakan metode uji tersebut memiliki reprodusibilitas yang memenuhi syarat. Pada uji T didapatkan T_{hitung} sebesar 0,25 pada mie kering dan T_{hitung} sebesar 0,01 pada mie basah. $T_{hitung} < T_{tabel}$ maka H_0 diterima dan presisi antara dinyatakan tidak berbeda nyata.

3.1.5. Akurasi

Berbeda halnya presisi yang merujuk pada ketelitian, akurasi merujuk pada ketepatan suatu pengukuran. Syarat keberterimaan akurasi dapat dinyatakan dengan persen perolehan kembali (% *Recovery*), seperti terlihat pada tabel 6, 7 dan 8. Dari hasil pengujian didapat bahwa % *Recovery* untuk contoh mie kering dan mie basah pada uji DON memenuhi syarat yaitu antara 83%-101% dengan syarat keberterimaan yang digunakan adalah nilai akurasi yang berkisar antara 40-140%.

3.1.6. Limit deteksi dan limit kuantisasi

Limit deteksi adalah konsentrasi terkecil analit yang dapat dideteksi oleh instrumen yang digunakan, sedangkan limit kuantitasi merupakan

konsentrasi terkecil analit yang dapat diukur secara kuantitatif. Data yang didapat seperti Tabel 9. Secara statistika, limit deteksi dan limit kuantitasi didapatkan dari data linieritas kurva kalibrasi standar DON dengan perhitungan residual eror $(Sy/x)/slope$. Pada pengujian senyawa DON didapatkan limit deteksi instrumen (LOD) sebesar 0,02 mg/kg dan limit kuantitasi (LOQ) sebesar 0,06 mg/kg.

3.1.7. Limit deteksi metode

Limit deteksi metode merupakan konsentrasi analit terendah yang dapat dideteksi dengan handal oleh suatu metode dan secara statistik berbeda terhadap sinyal yang berasal dari blanko yang melalui perlakuan lengkap metode. Data yang didapat seperti Tabel 10 dan Gambar 4.

Tabel 6.

Data akurasi DON pada mie kering kode A

No. analisis	Parameter uji	Bobot cth (gram)	Vol akhir (mL)	Vol injek (uL)	Waktu retensi (menit)	Area cth	Hasil (µg/kg)	Rata-rata	Spike	% Recovery
A	1		50	50	tt			0.00		
	2		50	50	tt					
A + Spike	1	25.02	50	50	5.232	2371	101.211		102.12	99.11
	2	25.00	50	50	5.251	2409	102.704		102.20	100.49
	3	25.01	50	50	5.251	2401	102.366		102.16	100.20
	4	25.04	50	50	5.257	2311	98.904		102.04	96.93
	5	25.05	50	50	5.247	1927	84.622		102.00	82.97
	6	25.01	50	50	5.25	2433	103.554		102.16	101.37
	7	25.02	50	50	5.254	2378	101.471		102.12	99.37

Tabel 7.

Data akurasi DON pada mie kering kode B

No. analisis	Parameter uji	Bobot cth (gram)	Vol akhir (mL)	Vol injek (uL)	Waktu retensi (menit)	Area cth	Hasil (µg/kg)	Rata-rata	Spike	% Recovery
B	1		50	50	tt			0.00		
	2		50	50	tt					
B + Spike	1	25.06	50	50	5.674	9875	305.807		305.87	99.98
	2	25.06	50	50	5.68	9878	305.896		305.87	100.01
	3	25.05	50	50	5.681	9881	306.108		305.99	100.04
	4	25.12	50	50	5.679	9878	305.166		305.14	100.01
	5	25.29	50	50	5.678	9876	303.055		303.08	99.99
	6	25.01	50	50	5.668	9874	306.389		306.48	99.97
	7	25.01	50	50	5.675	9872	306.329		306.48	99.95

Tabel 8.

Data akurasi DON pada mie basah

No. analisis	Parameter uji	Bobot cth (gram)	Vol akhir (mL)	Vol injek (uL)	Waktu retensi (menit)	Area cth	Hasil (µg/kg)	Rata-rata	Spike	% Recovery
C	1		50	50	tt			0.00		
	2		50	50	tt					
C + Spike	1	25.06	50	50	5.466	9837	297.677		305.87	97.32
	2	25.15	50	50	5.475	10155	305.940		304.77	100.38
	3	25.10	50	50	5.404	10193	307.666		305.38	100.75
	4	25.19	50	50	5.426	9461	285.129		304.29	93.70
	5	25.28	50	50	4.431	10257	307.344		303.20	101.37
	6	25.20	50	50	5.433	10115	304.162		304.17	100.00
	7	25.19	50	50	5.446	10101	303.873		304.29	99.86

Tabel 9.

Data limit deteksi instrumen dan limit kuantitasi DON

No	Konsentrasi	Area (y)	Luas Puncak (yi)	(y-yi)	(y-yi) ²
1	102.20	6450	6447.78194	2.2181	4.92
2	204.40	13431	13306.17181	124.8282	15582.08
3	306.60	20351	20164.56167	186.4383	34759.25
4	408.80	26788	27022.95154	-234.9515	55202.23
5	613.20	40127	40739.73128	-612.7313	375439.62
6	817.60	55225	54456.51101	768.4889	590575.32
7	1022.00	67939	68173.29075	-234.2908	54892.16
		Jumlah			1126455.57
Regresi		0.99963089			
Intersep (a)		-410.6079295			
Slope (b)		67.10753295			
S(y/x) ²		160922.2243			
S(y/x)		401.1511241			
LOD		17.93320838			
LOQ		59.77736126			

Tabel 10.

Data limit kuantitasi DON

No. analisis	Parameter Uji	Bobot cth (gram)	Vol akhir (mL)	Vol injek (uL)	Waktu retensi (menit)	Area cth	Hasil (µg/kg)
A	1		50	50	tt		
	2		50	50	tt		
	3		50	50	5.427	365	19.807
A + Spike	1	25.59	50	50	5.421	368	19.903
	2	25.59	50	50	5.434	370	20.237
	3	25.25	50	50	5.457	377	20.466
	4	25.25	50	50	5.472	382	20.443
	5	25.48	50	50	5.439	370	20.054
	6	25.48	50	50	5.442	364	20.120
	7	25.15	50	50	5.467	366	20.186
	8	25.15	50	50

Gambar 4. Peak sampel+spike 20 ppb DON

3.2. Uji banding

Uji banding terhadap matriks contoh yang digunakan dalam validasi metode dilakukan dengan 4 laboratorium yang berbeda. Dari hasil uji banding tersebut diperoleh data pada Tabel 11.

Tabel 11.

Data hasil uji banding I

Laboratorium	Mie Basah (ppb)	Mie Kering (ppb)
BBIA	<0,02	<0,02
Lab A	<0,04	<0,04
Lab B	<0,02	<0,02
Lab C	<0,04	<0,04

Dari data di atas hasil pengujian di BBIA dengan laboratorium lain tidak berbeda nyata, yaitu di bawah limit deteksi masing-masing alat yang

digunakan. Kemudian dilakukan uji banding kedua menggunakan contoh yang ditambahkan standar DON dengan jumlah tertentu. Uji banding ini dilakukan oleh laboratorium BBIA dan laboratorium A dengan hasil yang tercantum pada Tabel 12.

Tabel 12.

Data hasil uji banding II

Laboratorium	Mie kering + spike 1 ppm	% Recovery
BBIA	0,954	95,43
Lab A	0,996	99,55

Dari data hasil uji banding tersebut, hasil pengujian di laboratorium BBIA mendapatkan hasil perolehan kembali 95% dan hasil pengujian di laboratorium A mendapatkan hasil perolehan kembali 99%. Kedua hasil ini memenuhi persyaratan % Recovery 75-120%.

4. Kesimpulan

Berdasarkan Hasil validasi metode uji DON secara KCKT dalam sampel mie kering dan mie basah didapatkan nilai selektivitas (waktu retensi sekitar menit kelima), uji Linieritas (persamaan regresi yaitu $y = 67,1x - 411$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9996), repetabilitas (mie kering sebesar 0.38% dan mie basah sebesar 2,66% <

nilai 2/3 CVHorwitz), reproduibilitas (mie kering sebesar 0.46% dan mie basah sebesar 2,31% < nilai 2/3 CV Horwitz), % *Recovery* (83%-101%), limit deteksi (0,02 mg/kg), limit kuantitasi (0,06 mg/kg), dan limit deteksi metode (0,02 mg/kg). Uji banding pertama dilakukan dengan empat laboratorium berbeda yang memberikan hasil tidak berbeda nyata yaitu di bawah limit deteksi masing-masing alat. Uji banding kedua dilakukan di dua laboratorium berbeda menggunakan contoh yang ditambahkan standar DON dengan jumlah tertentu pada komoditi mie kering, diperoleh hasil pengujian memenuhi persyaratan % *Recovery*.

Berdasarkan hasil pengujian dapat disimpulkan bahwa metode uji DON secara KCKT dalam sampel mie kering dan mie basah memenuhi semua persyaratan validasi metode sehingga dapat dinyatakan valid dan dapat diterapkan di laboratorium BBIA untuk pengujian rutin.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Industri Agro atas dana penelitian yang diberikan serta seluruh pihak yang telah membantu sehingga makalah ini dapat disusun dengan baik.

Daftar Pustaka

- AOAC. (1998). *manual on policies and procedures*, Arlington, Va. Arlington: AOAC.
- AOAC. (2005). Official methods of analysis of AOAC International. AOAC.
- Begona. (2015). *Analytical Procedure to Determination Deoxynivalenol in Cereals and Cereal Products – Deoxynivalenol Analysis*. Bogor: AETS Consorsium.
- BSN. (2008). *SNI ISO IEC 17025 : Pesyaratan umum kompetensi laboratorium pengujian dan laboratorium kalibrasi*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- BSN. (2009). *SNI-7385-2009 : Batas-batas maksimum kandungan mikotoksin dalam bahan pangan, bahan baku & bahan tambahan pangan*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional (BSN).
- DepKes. (2001). *Petunjuk Operasional CPDB Edisi Kedua*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- FAO/WHO. (2011). safety evaluation of certain contaminans in food. *FAO JECFA Monograph*, 8. pp319.
- Harmita. (2004, vol. 1). petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalak Ilmu kefarmasian*.
- ICH. (2005). Text on validation of analytical procedures. *international conference of harmonitation of technical requirements for registration of pharmaceutical for human use*. USA.
- Kartasubrata. (2008). *Validasi Metode*. Bandung: Pusat Penelitian LIPI.
- Kushiro, M. (2008). Effects of milling and cooking process on the deoxynivalenol content in wheat. *Int J Mol Sci*, 9(11):2127-45.
- Pieters, M., Freijer, J., Baars, B., Fiolet, D., Klaveren, J., & J Slob, W. (2002). *Risk assesment of deoxynivalenol in food : concentratrion limits, exposure and effects*. New York (US): Kluwer Academic/Plenum Publisher.
- Riyanto. (2014). *Validasi dan verifikasi metode uji : sesuai dengan ISO IEC 17025 laboratorium pengujian dan kalibrasi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Romer Labs Inc. (2014). *Rapid Quantitation of Deoxynivalenol in Cereals by HPLC-UV with DONStar™ R Immunoaffinity clean-up*. Germany: Romer Labs Inc.
- Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., & Kizek, R. (2010). Deoxynivalenol and Its Toxicity. *Interdisiplinary Toxicology Journal* , 3(3): 99-99.