

Kadar Melamin pada Produk Berbahan Susu dan Susu Bubuk yang Dianalisis secara *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS)

Rachmawati S, Widiyanti PM

Balai Besar Penelitian Veteriner Jl. R E Martadinata 30, Bogor
E-mail: srizai@hotmail.com

(Diterima 25 Januari 2013; disetujui 4 Maret 2013)

ABSTRACT

Rachmawati S, Widiyanti PM. 2013. The content of melamine in milk based products, and milk powders analyzed by liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS). JITV 18(1): 63-69.

Melamine is a white crystal of organic compound has a molecular weight of 126.12, difficult to solve in water. Cases of illegally adding melamine in milk powder is subjected to increase the nitrogen content of milk, because melamine contains high nitrogen (66%), so when milk is tested, seems contains high protein. This paper presented data the content of melamine in products based milk, and milk powders which entered and marketed in Indonesia. Melamine analysis is done by LC- MS 2010 EV, Shimadzu. Confirmation and validation tests indicate that melamine scanning found at $m/z = 127$, suitable system of analysis with relative standard deviation (RSD) given of 1,18% ($< 2,0\%$). Accuracy test gave the average of 89.1% recovery, detection limit of 5 ppb and limit of quantitation 7 ppb. About 91.3% samples ($n = 46$) collected from animal quarantine Tanjung Priok contained melamine in the range of 6.7 ppb to 61.5 ppb which is 1/49 to 1/16 times less than standard limit. Whereas about 40%, 14 out of 35 samples collected from Bandung and Jakarta supermarket was not detected of melamine, and 60% samples positive contain melamine in the range of 5,1 to 26,5 ppb (1/200 to 1/38 standard limit). However, all the samples analyzed contain melamine below the standard limit of 1 ppm determined by WHO/FAO.

Key Words: Melamine, Milk Powder, Milk Based Products, LCMS

ABSTRAK

Rachmawati S, Widiyanti PM. 2013. Kadar melamin pada produk berbahan susu dan susu bubuk yang dianalisis secara liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS). JITV 18(1): 63-69.

Melamin adalah suatu zat organik dengan berat molekul 126,12 berbentuk kristal putih dan agak sulit terlarut dalam air. Kasus penambahan melamin secara ilegal pada susu ditujukan untuk meningkatkan kadar nitrogen karena melamin memiliki kandungan nitrogen yang tinggi (66%) sehingga pada saat susu diperiksa seolah-olah susu mempunyai kandungan protein yang tinggi. Makalah ini menyajikan data kadar melamin pada produk berbasis susu, dan susu bubuk, yang beredar di Indonesia. Melamin di analisis dengan alat LC-MS 2010 EV, Shimadzu. Hasil konfirmasi dan validasi metoda menunjukkan *scanning* melamin pada (m/z) 127, kesesuaian sistim baik dengan nilai RSD 1,18% ($\leq 2,0\%$). Uji akurasi memberikan nilai perolehan kembali sebesar rata-rata 89,1%. Limit deteksi melamin 5 ppb dan limit kuantitasi 7 ppb. Hasil analisis melamin pada sampel dari karantina sebanyak 91,3% ($n = 46$) terdeteksi adanya melamin dengan kadar dalam kisaran 6,7 ppb sampai 61,5 ppb (1/49 kali sampai 1/16 kali lebih kecil batas limit), sedangkan sebanyak 40%, 14 dari 35 sampel susu bubuk dari swalayan di daerah Bandung dan Jakarta tidak terdeteksi adanya melamin, dan 60% sampel terdeteksi adanya melamin dengan kadar sangat kecil dalam kisaran 5,1 ppb sd 26,5 ppb (1/200 sampai dengan 1/38 kali batas limit). Namun demikian, hasil kadar melamin yang diperoleh dari semua sampel yang dianalisis berada dibawah batas limit 1 ppm yang ditetapkan WHO/FAO.

Kata Kunci: Melamin, Susu bubuk, Produk Bahan Susu, LCMS

PENDAHULUAN

Melamin adalah suatu zat organik dengan berat molekul 126,12, memiliki struktur kimia $C_3N_6H_6$, berbentuk kristal putih dan agak sulit terlarut dalam air. Melamin banyak digunakan pada produksi alat plastik seperti peralatan makan. Selain itu, melamin merupakan komponen utama pewarna kuning yang digunakan

dalam pembuatan tinta dan plastik dan juga digunakan sebagai pupuk dan pestisida (Vail et al., 2007; Martoyo 2009). Penambahan melamin secara ilegal pada susu ditujukan untuk meningkatkan kadar nitrogen karena melamin memiliki kandungan nitrogen yang tinggi (66%) sehingga pada saat susu diperiksa seolah-olah susu mempunyai kandungan protein yang tinggi, karena secara umum kandungan protein ditetapkan dengan cara

menentukan kandungan nitrogennya (Sun et al. 2010; Yu et al. 2010).

Pada akhir tahun 2008, dilaporkan dari Cina banyak bayi yang mengalami kerusakan ginjal dan bahkan beberapa diantaranya meninggal dunia. Setelah diselidiki ternyata penyebabnya adalah adanya kandungan melamin di dalam produk susunya (Ibanez et al. 2009; Sun et al. 2010; Lutter et al. 2011; Gosciny et al. 2011). Data yang diperoleh dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), tahun 2010-2011, kadar kontaminasi melamin sebesar 8,51 ppm pada minuman susu kedelai dan 945,8 ppm pada permen susu yang diimpor dari Cina. Sedangkan kadar melamin pada biskuit yang diimpor dari Malaysia sebesar 0,18-2,74 ppm (Nissa, 2011)

Batas maksimum cemaran melamin dalam produk pangan di Indonesia saat ini belum diatur. Undang-Undang Nomor 7 Tahun 1996 tentang Pangan mengatur bahwa produk pangan tidak boleh mengandung bahan beracun, berbahaya, atau mengandung cemaran yang melampaui ambang batas maksimum yang ditetapkan. Menurut Lutter et al. (2011), WHO/FAO (2008) menetapkan batas limit melamin dalam susu formula bayi yang dapat ditoleransi sebesar 1 ppm (1 mg/kg). Metode uji yang disarankan untuk mendeteksi melamine dan asam sianurat adalah LC-MS (Liquid Chromatography Mass Spectrofotometri) atau setidaknya HPLC (Fremlin dan Pelzing 2009). Sebagian besar susu yang beredar ataupun yang digunakan sebagai bahan baku susu di Indonesia adalah impor, yang mencapai sekitar 60%. Impor juga dilakukan dari Cina. Untuk itu, perlu dikembangkan metode deteksi melamin dan pengujian adanya cemaran melamin pada susu impor untuk menjamin susu yang aman yang akan beredar di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metoda analisis melamin secara LCMS dan menganalisa cemaran melamin pada susu bubuk.

MATERI DAN METODE

Validasi metoda

Validasi metoda yang dilakukan meliputi beberapa parameter yaitu: uji konfirmasi, uji kesesuaian sistem, uji recovery, uji linieritas, uji limit deteksi dan uji limit kuantitasi. Pengujian melamin dilakukan pada kondisi penetapan dengan alat LC-MS (LC-MS 2010 EV, Shimadzu) yaitu: sistem LC fase balik, dengan fase gerak asetonitril-akuabides (7 : 3) dan ammonium asetat 10 mmol, teknik pemisahan sistem gradien pompa LC (LC-10 ADVP) dan pompa vakum kecepatan alir 1ml/menit, kolom C₁₈ shimadzu shimpack, dimensi kolom: 150 mm x 2,1 mm, temperatur kolom 40°C, volume injeksi 10 µl, generator nitrogen, suhu gas

250°C, detektor spektrometri massa (SPD-10 AVP), teknik ionisasi *Electrospray Ionization* (ESI) ion positif.

Pengumpulan, persiapan, ekstraksi serta analisis sampel

Pengumpulan sampel berupa produk impor dilakukan bekerjasama dengan Karantina Hewan Tanjung Priok dan pengambilannya dilakukan secara periodik. Sampel dari Karantina Hewan Tanjung Priok (46 sampel) berupa produk berbahan dasar susu, susu bubuk, *whey*, keju dan produk lain seperti (kasein, yogurt, mentega). Sementara itu, sebanyak 35 sampel susu bubuk dikumpulkan dari swalayan besar di daerah Bandung dan Jakarta. Sampel-sampel tersebut disimpan dalam tempat penyimpanan *freezer* (-20°C). Sebelum dilakukan ekstraksi, sampel dikeluarkan dari *freezer*, didiamkan beberapa saat sampai suhu sampel sesuai dengan suhu ruang, selanjutnya masing-masing sampel ditimbang sebanyak ± 2 g, diekstrak dengan 14 ml asam format 2,5%, selanjutnya dikocok selama 30 menit. Hasil ekstrak disentrifus pada 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan, diambil sebanyak 1,4 ml selanjutnya disentrifus ulang pada 13.000 rpm selama 30 menit. Hasil ekstrak disaring dengan PVDF (13 mm; 0,22 µm), sebanyak 50 µl ekstrak diencerkan dengan 950 µl asetonitril, kemudian di vortek (dikocok) selama 30 detik dan disentrifus pada 13.000 rpm selama 30 menit, lalu pindahkan ke *autosampler vial*. Cairan jernih siap untuk pendeteksian dengan LC-MS. Metode mengacu pada Turnipseed et al. (2008), dengan sedikit modifikasi menyesuaikan peralatan yang tersedia di Bbalitvet.

HASIL DAN PEMBAHASAN

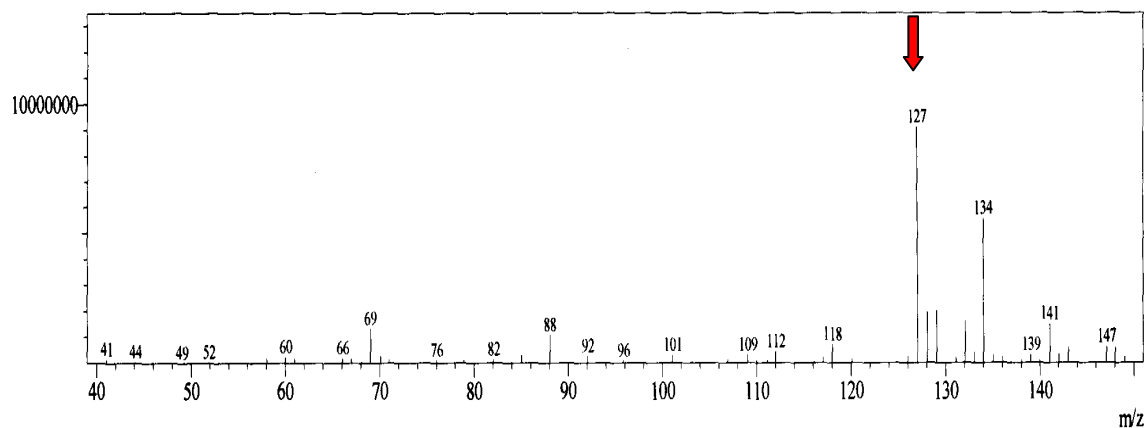
Validasi metode

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Parameter analisis dalam validasi metoda meliputi: uji konfirmasi, uji kesesuaian sistem, uji recovery, uji linieritas, uji limit deteksi (LOD) dan uji limit kuantitasi (LOQ) (Harmita, 2004).

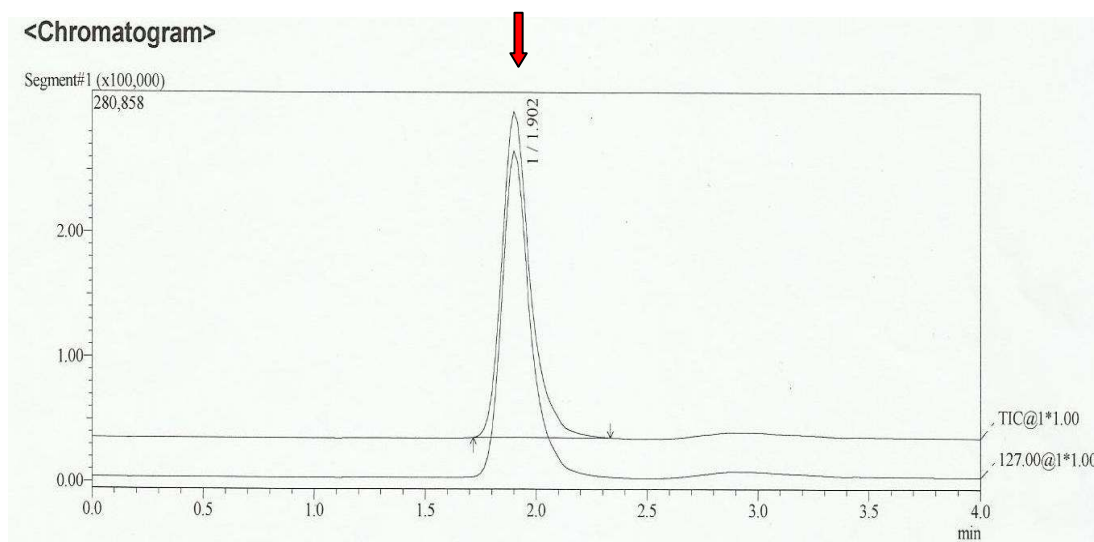
Analisa melamin pada produk berbahan susu dan susu bubuk dilakukan dengan menggunakan LC-MS. Uji konfirmasi pada LC-MS dilakukan untuk mengetahui fragmentasi ion dari senyawa yang dianalisis. Uji konfirmasi merupakan uji kualitatif pada LC-MS dengan mengetahui fragmentasi ion dari senyawa, dilakukan sebelum uji kesesuaian sistem untuk memperkuat identifikasi kualitatif dari melamin dengan melihat perbandingan massa terhadap muatan, senyawa melamin pada kromatogram dapat diketahui

dari terbentuknya fragmen-fragmen ion pada perbandingan massa terhadap muatan (m/z) 127, memberikan signal yang tertinggi. Gambar 1a., adalah hasil *scanning* yang menunjukkan (m/z) 127 yang dideteksi dengan alat LC-MS. LC-MS memberikan informasi lebih terstruktur daripada HPLC. Pada LC-

MS, identifikasi senyawa secara kualitatif lebih spesifik dibandingkan dengan HPLC karena pada LC-MS tidak hanya waktu retensi yang diamati tetapi juga pemisahan ion suatu senyawa (Turnipseed et al. 2008, Lutter et al. 2011). Tampilan kromatogram melamin pada konsentrasi 0,5 ppm seperti pada Gambar 1b.



Gambar 1a. Hasil scanning melamin dengan alat LC-MS, terlihat sinyal tertinggi pada (m/z) 127



Gambar 1b. Kromatogram melamin (m/z 127), konsentrasi 0,5 ppm

Uji kesesuaian sistem pada metode LC-MS dikehendaki adanya kepastian kesesuaian dan keefektifan sistem operasional akhir. Penyesuaian kondisi operasional dilakukan agar diperoleh hasil yang baik. Pada hakekatnya pengujian semacam ini berdasarkan atas konsep bahwa peralatan elektronik, zat uji dan kondisi operasional analitik membentuk suatu sistem analitik tunggal yang dapat diuji fungsinya secara keseluruhan. Data spesifik dikumpulkan dari penyuntikan ulang larutan uji atau larutan baku. Dalam petunjuk APVMA (2004) untuk pengulangan/replikasi sebaiknya minimal 5 kali ulangan, kemudian dihitung relatif standar deviasi (RSD) atau koefisien variasi (CV) dari hasil pengulangan tersebut. Harmita (2004) menyatakan bahwa sistem dinyatakan sesuai jika didapatkan relatif standar deviasi (RSD) $\leq 2,0\%$. Pada penelitian ini digunakan data kromatogram tujuh kali hasil pengulangan standar melamin 0,5 ppm. Hasil pengujian dari 7 kali ulangan standar melamin 0,5 ppm yang diperoleh adalah rata-rata luas puncak 1297169,6 dengan standar deviasi 15361,5 dan RSD 1,18%. Kondisi penetapan tersebut sesuai untuk analisis melamin. Kondisi alat LCMS (LC-MS 2010 EV, Shimadzu) untuk penetapan melamin seperti pada bab materi dan metoda *point 1*.

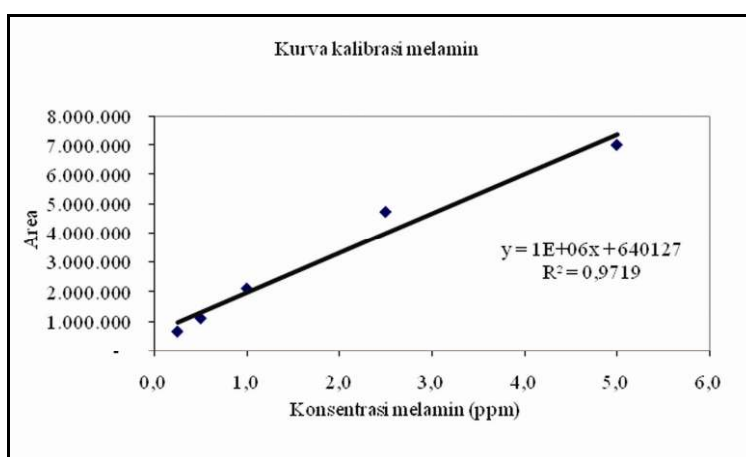
Uji linearitas adalah untuk mengetahui kemampuan metode analisis memberikan respon yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas biasanya dinyatakan sebagai variasi sekitar kemiringan (*slope*) dari garis regresi yang diperhitungkan sesuai dengan rumus matematika, yang didapat dari hasil pengujian sampel dengan berbagai konsentrasi. Kelinearan suatu metode perlu diuji untuk membuktikan adanya hubungan linear antara konsentrasi analit dengan respon instrumen. Umumnya

dibuat kurva dengan berbagai konsentrasi dari kadar zat yang dianalisis versus respon alat. Linearitas variasi standar melamin 0,25 ppm sampai 5,0 ppm versus luas area kromatogram memberikan nilai $R = 0,97$ (Gambar 2).

Uji akurasi (ketepatan) dilakukan untuk menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis terhadap kadar zat yang sebenarnya. Akurasi merupakan ukuran ketepatan metode analisis dan biasanya dinyatakan dalam persen perolehan kembali. Perolehan kembali ditetapkan dengan cara menambah standar analit (*spike*) dalam jumlah tertentu ke dalam tempat yang mengandung analit yang sama dan ditentukan nilai persen perolehan kembali. Persen perolehan kembali antara 75-125%, dinilai memenuhi syarat akurat, untuk analisis kuantitatif dengan menggunakan instrumen (Smoker dan Krinitsky 2008). Makin dekat hasil analisis yang diperoleh dengan nilai yang sebenarnya, maka akurasinya semakin tinggi. Hasil uji akurasi melamin pada konsentrasi *spike* 0,5 ppm diperoleh rata-rata perolehan kembali 89,4% dengan ulangan 3 kali (Tabel 1), sehingga nilai akurasi yang diperoleh dapat diterima.

Tabel 1. Hasil uji recovery (perolehan kembali)

Melamin	% Recovery
Spike A	82,0
Spike B	86,6
Spike C	98,6
Rata-rata	89,1
Sdv	8,5
% RSD	9,5



Gambar 2. Linearitas konsentrasi melamin versus luas area kromatogram

Limit deteksi (LOD) adalah batas kadar terkecil yang masih dapat dideteksi oleh alat dan menghasilkan respon yang bermakna. Metode penentuan batas deteksi dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu cara visualisasi, kalkulasi perbandingan dari sinyal ke *noise*, kalkulasi standar deviasi dari sampel *blank*, kalkulasi dari kalibrasi pada konsentrasi terendah (Shrivastava dan Gupta 2011). Pada penelitian ini, cara yang digunakan untuk menentukan batas deteksi, yaitu secara visualisasi. Batas deteksi ditentukan dengan melakukan analisis terhadap zat uji yang diketahui konsentrasinya dan menetapkan kadar terendah yang dapat dideteksi dengan baik. Ternyata 5 ppb adalah konsentrasi terendah yang masih dapat dideteksi, karena kromatogram melamin 2,5 ppb, memberikan *tailing* yang besar (Gambar 3a,b).

Batas kuantitasi adalah konsentrasi analit terkecil yang dapat dikuantitasi secara cermat dan seksama. Batas kuantitasi dihitung dari rata-rata konsentrasi melamin yang terendah ditambah 10 kali standar deviasi dari 6-10 ulangan (APVMA 2004). Hasil yang diperoleh adalah 7 ppb. Yu et al., 2010 melaporkan nilai LOD dan LOQ melamin yang ditetapkan secara LC-MS/MS sebesar 5 ppb dan 15 ppb.

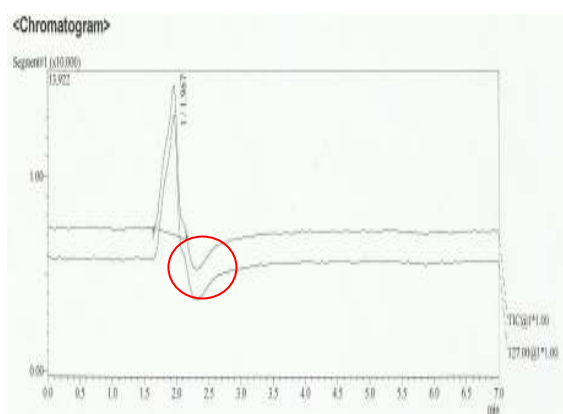
Hasil analisis melamin sampel-sampel lapang

Pengujian protein dengan menentukan unsur nitrogen didalam produk pangan dapat diketahui dengan metode *Kjeldahl*. Namun metode *Kjeldahl* memiliki kelemahan tidak bisa membedakan apakah nitrogen dalam produk pangan tersebut benar-benar protein atau

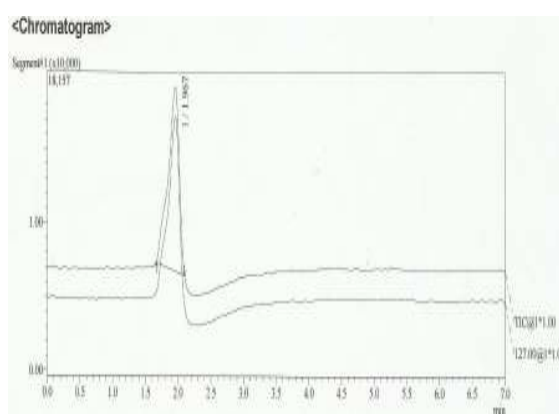
terdapat pemalsuan protein seperti pada kasus penambahan melamin atau kontaminasi melamin karena lingkungan. Sehingga pengujian adanya melamin dalam produk pangan sebaiknya menggunakan metode analisa secara chromatography (HPLC dan LC-MS) (Martoyo 2009; Hau et al. 2009).

Sampel yang diperoleh dari Karantina Hewan Tanjung Priok merupakan produk berbahan susu, diantaranya susu bubuk, *whey*, keju, dan produk lain (kasein, yogurt, mentega) dengan total sampel sebanyak 46 sampel. Pengambilan sampel dari Karantina Hewan Tanjung Priok dilakukan karena karantina merupakan pintu gerbang masuknya produk-produk impor dari luar negeri. Hasil analisis melamin dari sampel-sampel diatas disajikan pada Tabel 3. Ternyata 4 sampel (*whey* dan susu bubuk) atau 8,7% sampel tidak terdeteksi adanya melamin (kadar melamin < dari 5 ppb) sedangkan sebanyak 91,3% terdeteksi adanya melamin dengan kadar dalam kisaran 6,7 ppb sampai 61,5 ppb.

Pengujian melamin dari 35 sampel susu bubuk yang dikumpulkan dari swalayan di daerah Bandung dan DKI Jakarta, sebanyak 14 sampel (40%) tidak terdeteksi adanya melamin (kadar melamin lebih kecil dari 5 ppb), sedangkan sebanyak 21 sampel (60%) terdeteksi adanya melamin, namun dalam konsentrasi yang sangat kecil yaitu dalam kisaran 5,1 ppb sampai 26,5 ppb. Jika dibandingkan dengan batas limit melamin yang dianggap aman/dapat ditoleransi dalam susu bubuk yang dipersyaratkan WHO/FAO yaitu 1 ppm (1000 ppb), nilai kadar melamin dalam sampel tersebut hanya 1/200 kali sampai 1/38 kali batas limit.



(a)



(b)

Gambar 3 a,b. Kromatogram dari standar melamin 2,5 ppb (a) dan 5 ppb (b)

Tabel 2. Kandungan melamin sampel susu bubuk import dari swalayan daerah Bandung dan Jakarta.

Jenis sampel	Konsentrasi (ppb)	Jumlah sampel	%
Susu bubuk	Tt	14	41
Susu bubuk	5,1-26,5	20	59

Tt = tidak terdeteksi, limit deteksi = 5 ppb; BMR= 1000 ppb (1 ppm)

Jika dibandingkan dengan kadar melamin yang diperoleh pada sampel dari karantina Tanjung Priok, kadar melamin sampel susu bubuk dari swalayan lebih kecil. Keadaan ini dapat dimengerti karena umumnya bahan yang dianalisis pada sampel dari karantina adalah produk berbahan susu. Kadar melamin yang tertinggi terdeteksi pada sampel keju yaitu sebesar 61,5 ppb. Namun demikian kadar melamin dalam sampel yang dikumpulkan dari karantina juga masih jauh lebih rendah kadarnya jika dibandingkan dengan batas limit yaitu sebesar 1/49 kali sampai 1/16 kali lebih kecil.

Tabel 3. Hasil analisis melamin sampel berbahan dasar susu dari Karantina Tanjung Priok

Jenis sampel	Konsentrasi (ppb)	Jumlah sampel (total 46 sampel)
Susu bubuk (susu skim, full cream)	Tt - 29,0	24
Whey	Tt - 23,5	10
Keju	23,3 - 61,5	8
Produk lain (kasein, yogurt, mentega)	7- 27,5	4

Tt = tidak terdeteksi, limit deteksi = 5 ppb.; BMR = 1000 ppb (1 ppm)

Terdeteksinya melamin dalam jumlah kecil pada produk berbasis susu dan susu bubuk kemungkinan besar disebabkan adanya migrasi dari peralatan pada saat proses produksi dan kemasan selain dari lingkungan. Sebesar 97% melamin digunakan dalam pembuatan resin melamin dan digunakan untuk pembuatan plastik, peralatan makan, pelapis. Melamin juga bisa terdapat di lingkungan sebagai hasil degradasi dari pestisida (*cyromizin*) dan pupuk. Penambahan melamin pada pupuk untuk menambah unsur nitrogen sehingga tanaman tumbuh subur. Apabila tanaman tersebut dikonsumsi sapi, maka susu yang diproduksi berpotensi mengandung melamin. Selain itu juga, *trichloromelamine* digunakan sebagai bahan pembersih dan di Amerika penggunaan larutan pembersih melamin tersebut diizinkan untuk digunakan pada pengolahan makanan (Martoyo 2009; Hills dan Pelletier 2009; Ingelfinger 2008).

Kasus penambahan melamin juga dilakukan pada pakan hewan baik hewan ternak maupun hewan kesayangan seperti dilaporkan Lutter et al. 2011, sehingga faktor lain adanya melamin didalam susu dapat disebabkan oleh pakan ternak yang terkontaminasi melamin. Pada pakan ternak yang mengandung melamin 15 ppm (15000 ppb), setelah 5 jam di absorpsi ternak, ternyata susunya mengandung melamin dengan konsentrasi 2% dari total melamin pada pakan (300 ppb).

KESIMPULAN

Hasil validasi metoda analisis melamin secara LC-MS diperoleh konfirmasi melamin dengan alat LC-MS pada (m/z) 127, kesesuaian sistem baik dengan nilai RSD 1,18% ($\leq 2,0\%$) yang diperoleh dari pengujian 7 kali standar melamin 0,5 ppm. Uji akurasi memberikan nilai perolehan kembali sebesar rata-rata 89,1%. Limit deteksi melamin 5 ppb dan limit kuantitasi 7 ppb.

Sebanyak 91,3% (n = 46) sampel dari karantina hewan Tanjung Priok, terdeteksi adanya melamin dengan kadar dalam kisaran 6,7 ppb sampai 61,5 ppb (1/49 kali sampai 1/16 kali lebih kecil batas limit), sedangkan kadar melamin pada 35 sampel susu bubuk yang dikumpulkan dari swalayan di daerah Bandung dan Jakarta, sebanyak 40% (14 sampel) tidak terdeteksi, sedangkan 60% sampel terdeteksi adanya melamin dengan kadar sangat kecil dalam kisaran 5,1 ppb sd 26,5 ppb (1/200 sd 1/38 kali batas limit). Namun demikian, semua sampel yang dianalisis, kadar melamin yang diperoleh hasilnya dibawah batas limit aman 1 ppm.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Almarhumah Dr. dra. Tri Budhi Murdiati, MSc. yang telah menginspirasi penelitian ini. Semoga Almarhumah mendapatkan tempat yang mulia disisi Allah SWT.

DAFTAR PUSTAKA

- APVMA. 2004. Guidelines for the validation of analytical methods for active constituent, agricultural and veterinary chemical products. Kingston (Australia): APVMA.
- Fremelin LJ, Pelzing M. 2009. Melamine and cyanuric acid detection in 5 minutes using LCMS. Australia: Bruker Daltonics Division, Application note.
- Gosciny S, Hanot V, Halbardier JF, Michelet JY, Loco JV. 2011. Rapid analysis of melamine residue in milk, milk product, bakery goods and flour by ultra performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: from food crisis to accreditation. Food Control. 22:226-230.

- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Maj Ilmu Kefarm.* 1:117-135.
- Hau AK, Kwan TH, Li PK. 2009. Melamin toxicity and the kidney. *J Am Soc. Nephrol.* 20:245-250.
- Hills, Pelletierl. 2009. Background paper on occurrence of melamine in foods and feed. meeting on toxicological and health aspect of melamine and cyanuric acid. WHO Expert Meeting on Toxicological and Health Aspects of Melamine and Cyanuric Acid. Ottawa (Can) December 1-4, 2008. WHO in collaboration with FAO.
- Ibanez M, Sancho JV, Hernandez F. 2009. Determination of melamine in milk-based product and other food and beverage products by Ion-pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta.* 649:91-97.
- Ingelfinger JR. 2008. Melamine and the global implications of food contamination. *New Engl J Med.* 359:2745-2748.
- Lutter P, Perroud MCS, Gimenez EC, Meyer L, Goldmann T, Bertholet MC, Mottier P, Desmarchelier A, Florence M, Perrin C, Robert F, Delatour T. 2011. Screening and confirmatory methods for the determination of melamine in cow's milk and milk-based powdered infant formula: validation and proficiency-test of ELISA, HPLC-UV, GC-MS and LC-MS/MS. *Food Control.* 22:903-913.
- Martoyo PY. 2009. Cemaran Melamin dalam Pangan. *Food Review Indonesia.* Vol 4: 40.
- Nissa C. 2011. Kajian cemaran melamin dalam produk pangan dan pengawasannya di Indonesia (tesis S2). [Bogor (Indones)]. Institut Pertanian Bogor.
- Shrivastava A, Gupta VB. 2011. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. Review article. *Chron Young Sci.* 2:21-25.
- Smoker M, Krynitsky AJ. 2008. Interim method for determination of melamin and cyanuric acid residues in foods using LC-MS/MS: Version 1.0. *FDA Lab Inform Bull. LIB.* 4422.
- Sun F, Ma W, Xu L, Zhu Y, Liu L, Peng C, Wang L, H. Kuang H, Xu C. 2010. Analytical methods and recent development in the detection of melamine. *TrAC Trends Anal Chem.* 29:1239-1249.
- Turnipseed S, Casey C, Nochetto C, Heller DN. 2008. Determination of melamine and cyanuric acid in infant formula using LC-MS/MS. *FDA Lab Inform Bull. LIB.* 4421.
- Vail T, Jones PR, Sparkman OD. 2007. Rapid and unambiguous identification of melamine in contaminated pet food based on mass spectrometry with four degrees of confirmation. *J Anal Toxicol* 31:304-312.
- WHO. 2008. Overall conclusion and recommands. WHO Expert Meeting on Toxicological and Health Aspects of Melamine and Cyanuric Acid. Ottawa (Can) December 1-4, 2008. WHO in collaboration with FAO.
- Yu H, Tao Y, Chen D, Wang Y, Liu Z, Pan Y, Huang L, Peng D, Dai M, Liu Z, Yuan Z. 2010. Development of high performance liquid chromatography method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry method with pressurized liquid extraction for simultaneous quantification and confirmation of cyromazine, melamine and its metabolites in foods of animal origin. *Anal Chim Acta.* 682:48-58.